



# PROTOCOLO PARA O BIOMONITORAMENTO COM AS COMUNIDADES BENTÔNICAS DE RIOS E RESERVATÓRIOS DO ESTADO DE SÃO PAULO



2012





PROTOCOLO PARA O  
BIOMONITORAMENTO COM AS  
COMUNIDADES BENTÔNICAS DE RIOS E  
RESERVATÓRIOS DO ESTADO DE SÃO  
PAULO

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

2012



PROTOCOLO PARA O  
BIOMONITORAMENTO COM AS  
COMUNIDADES BENTÔNICAS DE RIOS E  
RESERVATÓRIOS DO ESTADO DE SÃO  
PAULO

Mônica Luisa Kuhlmann

Guiomar Johnscher-Fornasaro

Lucy Lina Ogura

Hélio Rubens Victorino Imbimbo

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

Diretoria de Engenharia e Qualidade Ambiental

Departamento de Análises Ambientais

Divisão de Análise Hidrobiológicas

Setor de Comunidades Aquáticas

2012

## Dados Internacionais de Catalogação

(CETESB – Biblioteca, SP, Brasil)

C418p CETESB (São Paulo)

Protocolo para o biomonitoramento com as comunidades bentônicas de rios e reservatórios do estado de São Paulo [recurso eletrônico] / CETESB ; Mônica Luisa Kuhlmann ... [et al.]. – São Paulo : CETESB, 2012.

113 p. : il. color.

Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes-/relatorios>>

Disponível também em CD.

ISBN 978-85-61405-37-3

1. Bentos 2. Comunidade bentônica – análise 3. Indicadores biológicos – métodos 4. Integridade ecológica 5. Macroinvertebrados aquáticos 6. Qualidade ambiental – biomonitoramento 7. Reservatórios - São Paulo (Est.) 8. Rios - São Paulo (Est.) I. Kuhlmann, Mônica Luisa II. Johnscher-Fornasaro, Guiomar III. Ogura, Lucy Lina IV. Imbimbo, Hélio Rubens Victorino V. Título.

CDD (21. ed. Esp.) 363.739 463 169308161

591.764 0286 8161

CDU (2. ed. Port.) 592/596:502.175 (282.2:815.6)

## DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado ao professor  
Dr Aristides de Almeida Rocha,  
primeiro biólogo e bentólogo da  
CETESB e à professora Dra Gisela Yuka  
Shimizu, líder no estudo da ecologia de  
comunidades bentônicas no Brasil.



## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à bibliotecária Margot Terada pela minuciosa e preciosa revisão do documento nos aspectos relativos às normas ABNT. Agradecemos a Dra

Denise Navas Pereira que, gerindo a Divisão de Análises Hidrobiológicas por muitos anos, sempre apoiou e incentivou as nossas iniciativas, bem como a todos os profissionais biólogos que, em sua passagem pelo bentos, no Setor de Comunidades Aquáticas, contribuíram com o estabelecimento dos métodos aqui apresentados, especialmente à Dra Rosana M. Henrique e à Dra Helena M.

Watanabe. Agradecemos ao auxiliar técnico Emerson Alves de Araújo, colaborador incansável do bentos. Agradecemos os trabalhos de parceiros, como a

Dra Gisela Y. Shimizu, que dedicou boa parte de seu tempo acadêmico na orientação de vários profissionais da CETESB, a MSc Vanessa H. Fidalgo, a MSc Flávia Mazzini e a MSc Fabiana Bonani, juntamente com seus orientadores, Dra

Ana L. Brandimarte, Dr Marcelo Z. Moreira e Dra Alaíde A. F. Gessner, respectivamente, por desenvolverem, em suas dissertações de mestrado, questões metodológicas sugeridas pela CETESB. Agradecemos aos ex-estagiários que

auxiliaram nas discussões de nossos métodos com seus trabalhos de conclusão de curso ou com apresentações em eventos científicos, como os biólogos Cristiane Y.

Hayashida; Gláucia M. C. Marques; Josilaine T. Kobayashi; Melissa V. Schleich;

Júlia L. Krähenbühl e Eduardo G. Martins. Agradecemos a todo o grupo de pesquisadores do projeto “Levantamento e Biologia de Insecta e Oligochaeta

aquáticos de sistemas lóticos do estado de São Paulo”, do Programa

BIOTA/FAPESP, parceiros da CETESB no desenvolvimento e adequação de ferramentas para a garantia de qualidade da análise de macroinvertebrados

aquáticos. Agradecemos também a todos os fotógrafos, cujas obras ilustram este

documento, em especial o Dr Frederico F. Salles, que gentilmente permitiu o uso de sua foto da forma imatura da espécie ameaçada de extinção *Perissophlebiodes flinti*.

E, finalmente, agradecemos o apoio da Dra Maria Inês Z. Sato, gerente do

Departamento de Análises Ambientais; da Dra Marta C. Lamparelli, gerente da

Divisão de Análises Hidrobiológicas e da Dra Maria do Carmo Carvalho, gerente

do Setor de Comunidades Aquáticas.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| <b>Figura</b> | <b>Título</b>   | <b>p.</b> |
|---------------|---|-----------|
| 1             | Exemplo de formulário para registro do dado em bancada  | 47        |
| 2             | Curva de acúmulo de táxons  | 49        |
| 3             | Exemplo de formulário para CQA de identificação taxonômica                                      | 59        |
| 4             | Índice da Comunidade Bentônica para rios (ICB <sub>RIO</sub> )                                  | 64        |
| 5             | Índice da Comunidade Bentônica para região sublitoral de reservatórios (ICB <sub>RES-SL</sub> ) | 64        |
| 6             | Índice da Comunidade Bentônica para região profunda de reservatórios (ICB <sub>RES-P</sub> )    | 64        |
| 7             | Faixas de qualidade   | 66        |

| <b>Foto</b> | <b>Título</b>   | <b>p.</b> |
|-------------|---|-----------|
| 1           | Acessos para a embarcação   | 22        |
| 2           | Margem deposicional em rio  | 24        |
| 3           | Pegador Ponar   | 27        |
| 4           | Pegadores Petersen modificado e van Veen                            | 29        |
| 5           | Versões do pegador Ekman-Birge                                      | 30        |
| 6           | Substrato artificial do tipo cesto com pedra de brita               | 31        |
| 7           | Testemunho  | 32        |
| 8           | Coleta de amostra de sedimento para análise de comunidade bentônica | 34        |
| 9           | Acondicionamento das amostras para transporte                       | 35        |
| 10          | Material para lavagem de amostras de macroinvertebrados             | 36        |
| 11          | Etapas de preparação de amostras de bentos                          | 37        |
| 12          | Flutuação de amostras   | 38        |
| 13          | Placa de Petri descartável de fundo quadriculado para triagem       | 39        |
| 14          | Larva de <i>Chironomus</i> (Chironomidae – Chironominae).           | 41        |
| 15          | Larva de <i>Stempellina</i> (Chironomidae – Chironominae).          | 42        |
| 16          | Opistocystidae  | 44        |
| 17          | Reprodução assexuada em <i>Dero</i> (Tubificidae – Naidinae)        | 44        |

|    |   |    |
|----|---|----|
| 18 | Colônia de Bryozoa  | 45 |
| 19 | Subamostrador em "L"  | 48 |
| 20 | Cápsula cefálica de <i>Labrundinia</i> (Chironomidae - Tanypodinae) | 51 |
| 21 | Larva de <i>Chironomus</i> em 4º instar                             | 53 |
| 22 | Mentos de <i>Chironomus</i> em condições normal e deformados        | 54 |
| 23 | Coleção referência para famílias de Trichoptera                     | 61 |

## LISTA DE SIGLAS

ABC - Região que compreende os municípios de Santo André, São Bernardo, São Caetano, Diadema e Mauá

CQA - Controle de Qualidade Analítico

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

EPC - equipamentos de proteção coletivo

EPI - equipamentos de proteção individual

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IBI - Index of Biotic Integrity

ICI - Invertebrate Community Index

ICB - Índice da Comunidade Bentônica

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

IOT - Instrução Operacional de Trabalho

POP - Procedimento Operacional Padronizado

SMA - Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo

UFBA - Universidade Federal da Bahia

UFJF - Universidade Federal de Juiz de Fora

UFSC - Universidade Federal de Santa Catarina

UFSCar - Universidade Federal de São Carlos

UNICID - Universidade Cidade de São Paulo

USEPA - United States Environmental Protection Agency

USP - Universidade de São Paulo



## SUMÁRIO

|            |  |            |
|------------|--|------------|
|            | <b>APRESENTAÇÃO</b>  |            |
| <b>1</b>   | <b>INTRODUÇÃO</b>  | <b>19</b>  |
| <b>2</b>   | <b>PLANEJAMENTO AMOSTRAL</b>   | <b>21</b>  |
| <b>2.1</b> | <b>Locais ou pontos de coleta</b>  | <b>21</b>  |
| <b>2.2</b> | <b>Habitats</b>  | <b>23</b>  |
| <b>2.3</b> | <b>Período de amostragem</b>   | <b>24</b>  |
| <b>2.4</b> | <b>Frequência de amostragem</b>  | <b>25</b>  |
| <b>2.5</b> | <b>Natureza do dado</b>  | <b>25</b>  |
| <b>3</b>   | <b>MÉTODOS DE AMOSTRAGEM</b>   | <b>26</b>  |
| <b>3.1</b> | <b>Equipamentos</b>  | <b>26</b>  |
| 3.1.1      | Pegadores  | 27         |
| 3.1.2      | Substrato artificial   | 30         |
| 3.1.3      | Testemunho   | 32         |
| <b>3.2</b> | <b>Coleta, armazenamento e transporte</b>                                    | <b>33</b>  |
| <b>4</b>   | <b>MÉTODOS DE ANÁLISE</b>  | <b>35</b>  |
| <b>4.1</b> | <b>Preparo da amostra</b>  | <b>35</b>  |
| <b>4.2</b> | <b>Análise da amostra</b>  | <b>38</b>  |
| 4.2.1      | Triagem  | 38         |
| 4.2.2      | Identificação e contagem   | 39         |
| <b>4.3</b> | <b>Subamostragem</b>   | <b>48</b>  |
| <b>4.4</b> | <b>Preparação de lâminas</b>   | <b>50</b>  |
| <b>5</b>   | <b>AVALIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE DEFORMIDADES EM MENTO DE <i>CHIRONOMUS</i></b> | <b>52</b>  |
| <b>6</b>   | <b>SAÚDE OCUPACIONAL</b>   | <b>54</b>  |
| <b>7</b>   | <b>SISTEMA DE QUALIDADE ANALÍTICA</b>  | <b>56</b>  |
| <b>7.1</b> | <b>CQA - triagem</b>   | <b>57</b>  |
| <b>7.2</b> | <b>CQA - identificação de organismos</b>                                     | <b>58</b>  |
| <b>8</b>   | <b>TRATAMENTO DE DADOS</b>   | <b>62</b>  |
|            | <b>REFERÊNCIAS GERAIS</b>  | <b>67</b>  |
|            | <b>APÊNDICE A</b>  | <b>77</b>  |
|            | <b>APÊNDICE B</b>  | <b>91</b>  |
|            | <b>ANEXO A</b>   | <b>95</b>  |
|            | <b>ANEXO B</b>   | <b>109</b> |



## APRESENTAÇÃO

A utilização de macroinvertebrados aquáticos, que incluem as comunidades bentônicas, para o diagnóstico de qualidade de ecossistemas aquáticos continentais remonta ao início do século XX. Desde então, muitos índices e protocolos foram desenvolvidos para sua aplicação em programas de biomonitoramento, especialmente para ecossistemas ribeirinhos de baixa ordem e rasos (nascentes, córregos, riachos), sendo atualmente a biota mais empregada para este fim (FLOTEMERSCH et al., 2006). Porém, os métodos utilizados nestes protocolos não se aplicam aos ambientes mais profundos, como os rios e reservatórios investigados na rede de monitoramento da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB).

A despeito de Thienemann ter empregado a comunidade bentônica na tipologia de lagos desde 1925 (BRINKHURST, 1974), protocolos para o biomonitoramento de reservatórios e grandes rios ainda são escassos na literatura, podendo ser citados Gerritsen et al. (1998), Gerritsen et al. (2000) e Flotemersch et al. (2006). Os primeiros dois trabalhos, voltados para lagos e reservatórios, subsidiaram muitas decisões tomadas na padronização dos métodos adotados neste protocolo. Já o trabalho de Flotemersch et al. (2006), desenvolvido para grandes rios, realiza coletas marginais, utilizando os mesmos métodos aplicados em riachos. Como os grandes rios do estado de São Paulo são em geral encaixados, com margens profundas ou cobertas por bancos de vegetação (alagados), não permitiriam o emprego destas técnicas.

O uso de comunidades no diagnóstico da qualidade ambiental de recursos hídricos do estado de São Paulo pela CETESB iniciou-se ainda em sua formação, no início da década de 1970, a partir do qual foram realizados estudos em ambientes críticos, como nos rios Atibaia (JOHNSCHER-FORNASARO et al., 1979), Moji-Guaçu (CETESB, 1980a), Sorocaba (PIVA et al., 1980b), Cubatão (JOHNSCHER-FORNASARO; ZAGATTO, 1987), Ribeira de Iguape

(HENRIQUE, 1998) e nos reservatórios Salto Grande-Americana (ROCHA, 1972), Guarapiranga (ROCHA, 1976) e Billings (ROCHA, 1984; KUHLMANN et al., 1997; KUHLMANN; TRUZZI; JOHNSCHER-FORNASARO, 1998), aos quais somaram-se estudos de desenvolvimento metodológico para o estabelecimento deste protocolo.

A inserção das análises de comunidades biológicas na rede de monitoramento do estado de São Paulo foi impulsionada pela Resolução da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo (SMA) nº 65 (SÃO PAULO, 1998), que incentivava a criação de novos métodos de diagnóstico, que abordassem o uso de indicadores biológicos. Foram então criados grupos de trabalho para o desenvolvimento destes índices e uma primeira versão do Índice de Comunidade Bentônica (ICB), já seguindo a abordagem multimétrica, foi concebida por profissionais da CETESB (MSc Guiomar Jonhscher-Fornasaro e Dra Mônica Luisa Kuhlmann) e pesquisadores da Universidade de São Paulo (USP) (prof. Dra Gisela Yuka Shimizu e prof. Dra Ana Lúcia Brandimarte), da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) (prof. Dra Alaíde Aparecida Fonseca Gessner e prof. Dra Suzana Trivinho-Strixino), Universidade Cidade de São Paulo (UNICID) (prof. Dr Maurício Anaya) e Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) (prof. Dra Renata Maria Guerreschi). Posteriormente, com projetos específicos, o ICB recebeu diferentes versões, de acordo com o tipo de ambiente em estudo (rios, sublitoral e profundo de reservatórios) e teve alguns de seus índices formadores alterados e/ou ajustados, mesmo depois da inserção da análise de comunidade bentônica entre as variáveis da rede de monitoramento do estado de São Paulo, em 2002.

Embora ambientes de grande porte em geral estejam sujeitos a um maior número de interferências e apresentem alta capacidade de assimilação, dificultando a investigação de relações causais de impactos individuais (FLOTEMERSCH et al., 2006), a rede de monitoramento do estado de São Paulo tem priorizado a avaliação destes ambientes em sua malha de amostragem. Essa diretriz relaciona-se em parte com a característica fisionômica da nossa

rede hidrográfica, rica em rios encaixados e de médio e grande porte, mas também pelo histórico das preocupações ambientais em ecossistemas aquáticos do estado, iniciado com a influência deletéria das grandes indústrias da região do ABC sobre o rio Tamanduateí. Além disso, a análise de bentos na rede de monitoramento foi incorporada na análise integrada de qualidade dos sedimentos, tendo sua metodologia se adequado a esta aplicação. Este protocolo descreve os métodos de amostragem e análise das comunidades bentônicas em rios e reservatórios utilizados nesta rede.



## 1 INTRODUÇÃO

Os macroinvertebrados aquáticos são aqueles selecionados em rede de no mínimo 0,20 mm (ou 200  $\mu$ m) de abertura (ROSENBERG; RESH, 1993). Em ecossistemas dulciaquícolas englobam espécies de Insecta, Annelida (principalmente Oligochaeta e Hirudinea), Nemertinea, Crustacea (Decapoda, Amphipoda e Isopoda), Mollusca (Bivalvia e Gastropoda) e alguns Turbellaria e Bryozoa. Colonizam o substrato de fundo dos ambientes aquáticos (bentos), onde podem viver na água de fundo (hiperbentos), sobre o substrato (epifauna), se enterrar em sedimento mais fino (infauna) ou ocupar os espaços entre os grãos de areia (fauna intersticial). Mas também podem ser encontrados associados às macrófitas (fitófilos) ou ao filme superficial (nêuston). Em ambientes rasos e marginais, a separação entre estes últimos e a fauna verdadeiramente bentônica não é possível, mas os macroinvertebrados encontrados em ambientes profundos têm hábito de vida bentônico.

Esta biota é componente essencial para o funcionamento dos ecossistemas aquáticos, atuando nos processos ecológicos de transferência de energia e de ciclagem de nutrientes. Além disso, tem papel na movimentação de contaminantes e nutrientes dos sedimentos por: 1) biorrevolvimento ou bioturbação, alteração física e química dos sedimentos promovido pelas populações que se enterram; 2) bioacumulação, em que a concentração corpórea de determinada substância tende a aumentar com o tempo de contato do organismo a ela; 3) transferência trófica ou biomagnificação, quando a concentração aumenta com o nível trófico; 4) biodegradação, quando há transformação, após ingestão, da substância pelo bentos; e 5) migração, quando o contaminante é transportado para outro sistema ou trecho do mesmo ambiente como, por exemplo, na emergência de insetos cujas larvas são aquáticas.

As comunidades de macroinvertebrados bentônicos retratam a diversidade ecológica do meio aquático por serem formadas por populações de hábitat e hábitos alimentares variados. Esta biota responde especialmente bem aos impactos de origem antrópica e tem sido utilizada como indicadora da qualidade ecológica para toda a biota aquática por viver em situação extrema. Por serem sedentárias ou de motilidade reduzida e estarem associadas ao sedimento, suas populações são as primeiras a sofrerem as consequências deletérias das atividades humanas do entorno. Além disso, o sedimento é o ponto final de grande parte da carga poluidora que adentra o ambiente aquático e é na água próxima ao leito que os teores de oxigênio dissolvido podem, rapidamente, atingir teores limitantes à vida.

Conseqüentemente, os macroinvertebrados têm sido usados na tipologia de lagos (BRINKHURST, 1974) e na avaliação biológica da qualidade da água, em projetos de diagnose e de monitoramento ambiental. Nestes estudos, apesar das variáveis físicas e químicas apresentarem respostas mais rápidas, a aplicação de

dados das comunidades biológicas, justifica-se por: 1) integrarem a ação de várias fontes de impacto sobre os ecossistemas aquáticos, incluindo alterações físicas, como a retirada da mata ciliar; 2) integrarem a ação de vários contaminantes, situação esta mais comum tanto em descargas industriais quanto domésticas, e que podem vir a exibir efeitos sinérgicos ou antagônicos; 3) responderem a níveis de contaminantes não detectáveis pela metodologia química; 4) responderem aos novos contaminantes, cuja metodologia analítica ainda está em desenvolvimento; 5) acusarem a ocorrência de despejos intermitentes, como é característica da emissão de efluentes industriais e 6) serem medida direta da qualidade ecológica do local, servindo como indicador de metas de qualidade para a biodiversidade.

O uso formal destes organismos como indicadores da qualidade de ecossistemas aquáticos começou no início do século XX, quando Kolkwitz e Marsson introduziram espécies do grupo no Sistema Saprobiano (CAIRNS; PRATT, 1993). Desde então, vários índices foram desenvolvidos ao redor do mundo, com o intuito de traduzir as respostas biológicas em números que não só possibilitam o dimensionamento de impactos como são mais facilmente compreendidos pelos gestores de recursos hídricos. Estes índices podem se basear no potencial bioindicador dos diferentes grupos que compõem a biota (p. ex. os índices bióticos), na estrutura da comunidade (p. ex. os índices de diversidade), ou ser uma mistura destes (os índices multimétricos). É importante frisar que a maioria dos índices bióticos existentes foi desenvolvida para riachos e não são aplicáveis para rios de médio e grande porte e, muito menos, para reservatórios. O mau uso destes índices pode resultar em diagnósticos errôneos e, conseqüentemente, decisões equivocadas, comprometendo a saúde do meio ambiente.

O monitoramento é um processo definido pela Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) nº 357/05 (BRASIL, 2005) como sendo de “medição ou verificação de parâmetros de qualidade e quantidade de água, que pode ser contínua ou periódica, utilizada para acompanhamento da condição e controle da qualidade do corpo d’água”. No monitoramento ambiental, análises de comunidades são utilizadas para avaliar a qualidade ambiental com vistas à proteção da biodiversidade, ou seja, a qualidade ecológica do corpo d’água. A mesma Resolução 357 sugere a aplicação de comunidades aquáticas, “quando apropriado”, em seu artigo 8º, 3º parágrafo.

Outro uso desta biota em meio ambiente está nos estudos de avaliação de impacto, em processos de licenciamento ambiental que envolvam obras de grande porte e/ou impacto sobre ecossistemas aquáticos. Neste contexto, a comunidade de macroinvertebrados pode ser inserida tanto na fase de diagnose ambiental quanto como instrumento para o acompanhamento de possíveis impactos sobre os recursos hídricos envolvidos (monitoramento). Algumas diferenças metodológicas sobre o uso em monitoramento devem ser consideradas na fase de diagnose. No levantamento inicial espera-se um inventário dos componentes da biota, ou seja, a amostragem deve ser

exploratória e buscar capturar exemplares de todas as populações existentes no trecho em estudo, e a identificação taxonômica deverá atingir o nível mais fino possível para que questões sobre a ocorrência de: espécies pertencentes às listas (federal e/ou estadual) de ameaçadas de extinção (anexo A), espécies exóticas invasoras ou com potencial de bioinvasão (anexo B), espécies ou grupos endêmicos, espécies ou grupos sensíveis ao impacto previsto, espécies ou grupos indicadores, que possam inclusive ser apontados para um plano de monitoramento, sejam contempladas na discussão dos resultados.

Além de sua aplicação ao nível de comunidade, que confere alta relevância ecológica ao dado de macroinvertebrados aquáticos, a avaliação da frequência de deformidade em mento de larvas do gênero *Chironomus* (Diptera: Chironomidae) pode ser útil na diagnose de problemas de uma bacia. Estas deformidades são em geral consideradas de natureza teratogênica, ou seja, não são transferidas para a geração seguinte, desaparecendo o efeito assim que o agente causador for afastado (BIRD; SCHWARTZ; JOSEPH, 1995). Mas, segundo Bird, Schwartz e Joseph (1995), algumas deformidades que mantêm a simetria bilateral do espécime e que são observadas em culturas do gênero podem ser mutagênicas, neste caso, passando para a prole. De qualquer maneira, parece não haver inviabilidade da população, servindo como medida de efeitos subletais *in situ*. Segundo literatura (KUHLMANN; HAYASHIDA; ARAÚJO, 2000), essas deformidades estão associadas à presença de contaminantes químicos no ambiente, sendo apontados como causadores, PCBs, HPAs, metais pesados, pesticidas e hormônios e podem indicar contribuições desta natureza ao recurso hídrico avaliado.

## 2 PLANEJAMENTO AMOSTRAL

No planejamento amostral é primordial delinear adequadamente a **questão** a ser respondida. É a partir dela que se definirá, por exemplo, os recursos hídricos a serem amostrados, a posição dos pontos de coleta e o tipo de amostragem a ser realizada.

### 2.1 Locais ou pontos de coleta

Como variável ecológica, destinada a avaliar a qualidade de um corpo d'água para a sustentação da biodiversidade aquática, as amostragens de comunidades bentônicas devem ser inseridas em redes de monitoramento, apenas em locais com tal preocupação.

Entre os pontos de coleta selecionados, pode ser crucial a definição de um ou mais **locais referência**, ou seja, ambientes com características físicas similares àquele que será estudado, preferencialmente localizados na mesma bacia hidrográfica, mas que apresente nenhuma ou mínima interferência humana. Em rios e reservatórios do estado de São Paulo é muito improvável poder trabalhar com a primeira condição.

**Foto 1 - Acessos para embarcação: entre o ideal e o possível**



Fonte: Mônica Luisa Kuhlmann (2001) e Lucy Lina Ogura (2012)

Para a localização inicial dos pontos de coleta podem ser utilizadas ferramentas como cartas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (p. ex. na escala 1:50.000), mapas rodoviários e imagens do *Google Earth*. E, em redes de monitoramento, é muito importante que as agências ambientais e/ou prefeituras e/ou comitês de bacia possam opinar no momento de inserção de

um ponto na bacia hidrográfica de sua responsabilidade, já que conhecem os problemas da região. De qualquer modo, é crucial uma visita para reconhecimento do local antes do trabalho de coleta. Nesta vistoria, os técnicos de campo definirão se o local permitirá o uso de embarcação, qual tipo de embarcação a ser empregada e o local de acesso da embarcação ao corpo d'água (foto 1). Se não houver possibilidade de uso da embarcação e não houver outro tipo de apoio para a coleta, como um píer, o ponto deverá ser deslocado. Só depois de definido um local apropriado pelos técnicos de campo é que se faz a caracterização do ponto de coleta, anotando suas coordenadas geográficas com GPS e outras referências de localização do ponto, dados de uso e ocupação de solo, de ocorrência de fauna e do grau de preservação da mata ciliar. Pode-se também fazer um croqui do ponto, apontando as principais referências de localização, como estradas e ruas.

## 2.2 Habitats

Nos ambientes aquáticos, as condições físicas, químicas e biológicas variam ao longo de seus eixos transversal e longitudinal, criando zonas ecológicas às quais diferentes populações biológicas estarão melhores adaptadas a se instalar. Conseqüentemente, as comunidades diferirão nos mesohabitats formados. Em reservatórios, comunidades bentônicas distintas são formadas nas regiões litoral, sublitoral e profunda (gradiente transversal), na zona de transição (braços) e no corpo central (gradiente longitudinal), em função da ação de ondas, da ocorrência de macrófitas, da variabilidade e tipo de substrato, da distribuição química, da incidência de luz, da estrutura térmica da massa d'água, da flutuação de nível e da hidrodinâmica. Em rios, as comunidades das margens deposicional e erosional e do canal distinguem-se principalmente em função da hidrodinâmica que define, por exemplo, o tipo do substrato e o estabelecimento da vegetação aquática. Como, em geral, os índices utilizados no diagnóstico ambiental são também sensíveis a estas diferenças, decorrentes da zonação, é fundamental padronizar o mesohabitat a ser monitorado, evitando-se com isso que a variabilidade natural não confunda o diagnóstico.

Em reservatórios, as coletas são realizadas em seu corpo central, em geral a uma distância suficiente para evitar as interferências promovidas pelas operações da barragem (adota-se, por exemplo, a distância de 2 km da barragem). Na área de amostragem são obtidas amostras das **regiões sublitoral e profunda**. As comunidades da região sublitoral são utilizadas não apenas por serem mais diversas que as da profunda, mas também por melhor retratarem as condições de qualidade da água e do estado geral do ambiente para a biodiversidade aquática (KUHLMANN et al., 2005). Além disso, em função da profundidade em que se encontram, não sofrem a influência de ondas e a heterogeneidade de habitats da região litoral (GERRITSEN et al., 1998). São preferidas margens que apresentem algum grau de conservação das matas, de modo que o dado não responda exclusivamente ao uso do solo imediato à área de coleta. As comunidades da região profunda, embora naturalmente mais restritas, são únicas para o diagnóstico da qualidade dos sedimentos finos, que se depositam

nas regiões mais profundas e calmas do sistema e que carregam consigo os contaminantes introduzidos por atividades antrópicas na bacia.

Em rios, as coletas são realizadas nas regiões de deposição (**margens deposicionais**) de forma que os resultados se encaixem nos diagnósticos de qualidade de águas e de sedimentos, para a preservação da biodiversidade aquática. Shimizu e colaboradores (2002) e Watanabe (2007) observaram que a fauna da margem deposicional mostrou-se suficientemente sensível para o dimensionamento da qualidade ecológica de rios. As margens de deposição são mais facilmente reconhecidas na face interna de curvas (foto 2)

**Foto 2 - Margem deposicional**



Fonte: Paulo Sérgio Gonçalves Rocha (2002)

### **2.3 Período de amostragem**

Variações sazonais também influenciarão a estrutura da comunidade e consequentemente os índices que as descrevem, devendo, portanto, ser evitadas. No período de verão chuvoso, por exemplo, quando o aumento das vazões ocasiona o arraste de parte da fauna em rios e a distribuição irregular de calor ao longo da coluna d'água pode promover o estabelecimento de termoclinas em reservatórios mais profundos, é esperada menor diversidade e riqueza em rios e nas regiões profundas de reservatórios. Estas alterações naturais do ambiente atuam nos índices de forma similar a um impacto antrópico negativo sobre a biota bentônica, confundindo o diagnóstico. Assim, este período deve ser evitado para amostragem com fins de avaliação da qualidade ecológica do ambiente.

O **inverno seco** foi o período de coleta padronizado para o biomonitoramento com macroinvertebrados bentônicos no estado de São Paulo, por ser um período associado a menores vazões e, portanto, ao aumento da concentração

de poluentes, deixando a fauna mais vulnerável aos efeitos de efluentes e, sob condições naturais, ainda apresentar riqueza elevada (KUHLMANN et al., 2005) e por ser o período de mistura da massa d'água em reservatórios que estratificam (COELHO-BOTELHO et al., 2006).

#### 2.4 Frequência de amostragem

As análises de macroinvertebrados podem ser demoradas e um incremento na frequência de coleta reduzirá o alcance espacial do biomonitoramento. Uma vez padronizado o período de coleta, espera-se que variações sazonais tenham pouca ou nenhuma interferência sobre os dados. Conseqüentemente, na rede de monitoramento do estado de São Paulo preferiu-se aumentar o número de locais diagnosticados e manter apenas um período **anual** para a coleta das amostras (inverno seco).

#### 2.5 Natureza do dado

Os dados podem ter natureza quantitativa, qualitativa ou semi-quantitativa. No primeiro caso é possível trabalhar com as densidades populacionais, no segundo apenas com a riqueza e, no terceiro, com abundâncias relativas.

Para o diagnóstico de alterações na comunidade decorrentes de modificações antrópicas no meio ou em seu entorno, os dados de densidade são mais sensíveis, respondendo a concentrações subletais de poluentes que, em um primeiro momento, não eliminam toda a população, mas apenas os indivíduos mais sensíveis ou debilitados. Esta resposta inicial ao agente estressor é observada na queda da densidade e/ou da biomassa. Além disso, em rios e reservatórios a macrofauna é mais restrita do que em riachos, onde protocolos qualitativos têm tido sucesso. Por estas razões, apesar da amostragem qualitativa oferecer uma análise mais rápida e com isso permitir o diagnóstico de um maior número de locais a um custo inferior, no estado de São Paulo optou-se inicialmente pelo levantamento de **dados quantitativos** ou **semi-quantitativos** no biomonitoramento de rios e reservatórios. No entanto, métodos qualitativos para aplicação no biomonitoramento de rios de médio e grande porte e reservatórios devem ser desenvolvidos para uso em uma primeira investigação da qualidade. Desta forma, os métodos semi-quantitativos e quantitativos atualmente empregados na rotina, se transformariam em opções de aprofundamento do diagnóstico.

Para o levantamento quantitativo, a tomada de réplicas é obrigatória, diante da natureza agregada das populações que compõem a comunidade de macroinvertebrados. O número ideal de réplicas depende do ambiente em estudo, sendo menor para locais impactados, que já tiveram parte da fauna eliminada. Existem equações na literatura que permitem o cálculo do número adequado de réplicas por local a ser estudado (ELLIOTT, 1977), porém muitas vezes este valor não é compatível com os objetivos do monitoramento e com a capacidade do laboratório. Assim, adotou-se um número fixo e viável de **três réplicas** por hábitat amostrado.

### 3 MÉTODOS DE AMOSTRAGEM

A obtenção de amostras de sedimento para análise das comunidades de macroinvertebrados bentônicos em ambientes profundos, como rios e reservatórios, requer **embarcação**. Assim, na equipe que vai ao campo é essencial que pelo menos um técnico tenha habilitação para **pilotar** o barco.

Os equipamentos devem estar em condições de uso e é interessante relacionar (**lista de checagem**) todo o material necessário para a coleta para checagem antes da saída para o campo.

**Fichas de coleta** devem ser elaboradas de acordo com as requisições do projeto, definindo todas as amostras a serem coletadas e para quais variáveis se destinam, já que muitas necessitam de preservativos ou frascos especialmente lavados.

Para a interpretação posterior dos dados são consideradas variáveis essenciais a serem mensuradas, juntamente com as amostras de comunidades bentônicas: **profundidade de coleta, transparência da água, oxigênio da água próxima ao fundo, granulometria, teor de matéria orgânica e umidade do sedimento**. A profundidade e a transparência indicarão se a comunidade amostrada estará construída por membros das cadeias alimentares de detritos e de pasteio ou só de detritos, no caso de não estar exposta à luz suficiente para que se desenvolvam organismos produtores primários. O oxigênio dissolvido é condição essencial para a vida aeróbia da qual fazem parte todos os membros da macrofauna bentônica. A granulometria determinará o tipo de população que ocorrerá no ambiente e a matéria orgânica a disponibilidade de alimento. A umidade, junto com a granulometria, determinará o grau de compactação do substrato: substratos finos em geral possuem alto teor de umidade (>85%), se o teor for baixo indicará a ocorrência de torrões, que podem limitar o estabelecimento de organismos tubícolas.

O trabalho de campo deve iniciar com as amostragens para análises de variáveis da água, para que partículas suspensas do fundo não interfiram nos resultados. Na coleta de sedimentos, a **primeira pegada** deve se destinar à análise da comunidade bentônica, uma vez que a perturbação do fundo com as tomadas repetidas de amostras pode afugentar ou afastar os organismos mais ágeis. As réplicas são retiradas segundo um **intervalo espacial aleatório** em relação à primeira. O trecho percorrido e representado pelos dados obtidos estende-se por cerca de 100m, para rios a até um raio de 500m, para reservatórios. Em rios, as coletas devem seguir a direção **jusante - montante**, novamente para que não se perturbe o ambiente a ser coletado.

#### 3.1 Equipamentos

Existem vários tipos de equipamentos de coleta de amostras de sedimento para análise de macroinvertebrados bentônicos de rios e reservatórios. Todos exibem algum tipo de seletividade, sendo a escolha definida segundo o tipo de

ambiente e o objetivo do trabalho. A escolha do equipamento mais adequado é chave para a qualidade da amostragem. Existem várias publicações que podem orientar esta decisão (KLEMM et al., 1990; BRANDIMARTE et al., 2004; KUHLMANN; WATANABE; KOBAYASHI, 2006; CETESB, 2011b).

### 3.1.1 Pegadores

Equipamentos com área de captura mensurável que “agarram” uma parcela do sedimento. Construídos em metal, são pesados e o movimento de descida pode formar ondas de choque, que podem lavar a superfície do sedimento e afugentar organismos mais ágeis. Uma forma de prevenir a formação destas ondas é controlar a velocidade de descida do equipamento. Suas garras podem ser bloqueadas por pedras, galhos ou outros detritos, acarretando perda de amostra.

#### a) Ponar

**Foto 3 - Pegador Ponar**



Fonte: Mônica Luisa Kuhlmann (2003)

Ambiente:

- rios profundos, litoral e sublitoral de reservatórios.

Características:

- apresenta vários tamanhos, a versão maior é pesada e necessita de guincho.
- é considerado o melhor amostrador quantitativo em substrato duro para a comunidade bentônica pela United States - Environmental Protection Agency (USEPA) (KLEMM et al., 1990).

- placas laterais e telas previnem a perda de amostra no fechamento e reduzem a formação de ondas de choque, mas, em substrato mole, pode haver perda de partículas finas por ondas de choque.
- possui pino de segurança.
- em terreno inclinado, como em muitas regiões litorâneas e sublitorâneas de reservatórios, pode haver dificuldade de desarme, já que as placas que prendem o pino podem não ficar alinhadas.
- o perfil vertical do sedimento não é mantido íntegro.

Usos:

- em substrato grosso e duro (arenoso à cascalho).
- a versão maior é mais indicada para ambientes prístinos e a menor para locais poluídos.
- para amostragem quantitativa e qualitativa da comunidade bentônica.

b) Petersen, van Veen e modificações (foto 4)

Ambiente:

- rios profundos, litoral e sublitoral de reservatórios.

Características:

- apresentam vários tamanhos.
- não é adequado para uso em substrato mole, havendo perda de partículas finas por ondas de choque e de organismos que se enterram mais profundamente

Usos:

- em substrato grosso e duro (arenoso à cascalho).
- para ambientes límnicos são indicadas as versões menores.
- para amostragem quantitativa e qualitativa da comunidade bentônica.

**Foto 4 - Pegadores Petersen modificado e van Veen**



A



B

Fonte: Mônica Luisa Kuhlmann (2003)

Notas: A = Petersen modificado; B = Pegador van Veen

c) Ekman-Birge e modificações (foto 5)

Ambiente:

- região profunda de reservatórios.

**Características:**

- é leve e de fácil operação.
- menor formação de ondas de choque pela existência de placas que se abrem no topo.
- a amostra é obtida quase íntegra, permitindo subamostragem.
- é muito leve para ser usado em substrato duro ou sob correnteza moderada ou forte.
- é possível a perda de material fino na subida do amostrador.

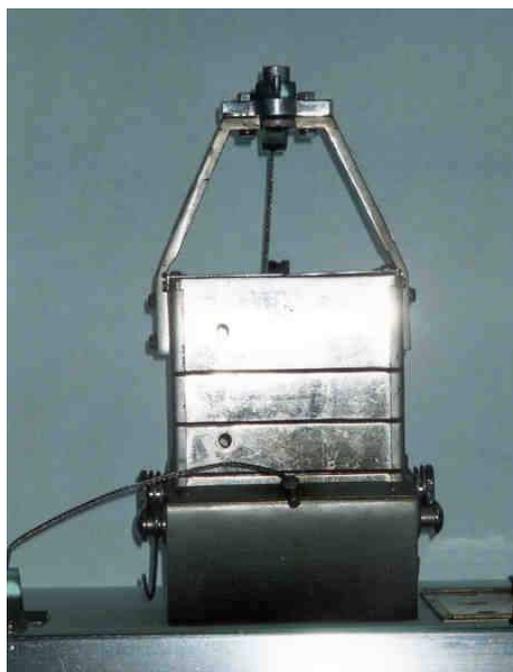
**Usos:**

- em substrato fino e mole (arenoso fino à argiloso).
- para amostragem quantitativa e qualitativa da comunidade bentônica.
- a modificação de Lenz permite estratificação e estudos ao longo do perfil vertical do sedimento.

**Foto 5 - Versões do pegador Ekman-Birge**



Fonte: Helena Mitiko Watanabe (2003)  
Nota: pegador padrão



Fonte: Helena Mitiko Watanabe (2003)  
Nota: pegador modificado por Lenz

### 3.1.2 Substrato artificial

Amostradores que imitam um substrato de colonização. Podem ser totalmente construídos com material inorgânico ou preenchidos com material orgânico, que diminui o tempo de espera para a colonização. Embora possibilitem uma amostragem padronizada e não destrutiva do local, exigem duas viagens a campo (instalação e retirada). Além disso, o tempo de colonização dos organismos é espacial e temporalmente variável. Por isso, é necessário um

estudo prévio para o estabelecimento do tempo de colonização dos organismos para cada ambiente em que o equipamento for empregado. É também frequente a perda de amostras por vandalismo ou inundações no local.

O substrato do tipo cesto preenchido com pedra de brita foi desenvolvido e testado pela CETESB (HENRIQUE-MARCELINO et al., 1992; KUHLMANN et al., 1993; KUHLMANN, 2000; IMBIMBO, 2001; KUHLMANN; IMBIMBO; WATANABE, 2003), tendo sido seu uso descartado para a rede de monitoramento pela logística, uma vez que necessita de duas viagens a campo, e pelo risco de perda da informação (foto 6). Mesmo assim, mostrou-se uma ferramenta sensível à deterioração do ambiente (IMBIMBO, 2001) e interessante para o monitoramento de locais protegidos e próximos, como no monitoramento de recursos hídricos dentro de empresas ou de unidades de conservação. No rio Tietê, o tempo de colonização necessário para se observar estabilidade nas medidas de estrutura da comunidade variou de 7 (verão) a 14 (inverno) dias (KUHLMANN, 2000).

**Foto 6 - Substrato artificial do tipo cesto com pedra de brita**



Fonte: Mônica Luisa Kuhlmann (2002)

Ambiente:

- rios e margens de reservatórios.

Características:

- padroniza o substrato de coleta.
- permite amostragem em locais duros demais para uso de outros amostradores.
- a amostra é de fácil processamento analítico.
- o equipamento é barato, de fácil construção e operação.
- na coleta, deve-se minimizar perdas de organismos com a lavagem pelo filme de tensão superficial.
- somente reflete as condições do ambiente no período de colonização.

- é seletivo para alguns organismos, não amostrando adequadamente aqueles com hábito de se enterrar (oligoquetos) e favorecendo a coleta de insetos. Consequentemente, não retrata a estrutura da comunidade bentônica do local de amostragem.

Usos:

- em substrato grosso e duro (arenoso a rochoso).
- para ensaios de comunidades bentônicas.
- para amostragem semi-quantitativa e qualitativa da comunidade bentônica.

### 3.1.3 Testemunho

Também conhecidos como *corer* ou *core sampler*, são coletores em tubo que permitem amostragem de um perfil íntegro e profundo dos sedimentos (foto 7). Podem ser usados manualmente ou utilizar mecanismos de fechamento, como mensageiros. Podem ser constituídos por um único tubo ou por até quatro (múltiplo). Este último, segundo Milbrink e Wiederholm (1973) é quase tão eficiente quanto a Ekman-Birge padrão na amostragem de larvas de Chironomidae em substrato lodoso.

**Foto 7 - Testemunho**



Fonte: Mônica Luisa Kuhlmann (2002)

Ambiente:

- rios e reservatórios. Os manuais têm uso restrito a ambientes rasos.

Características:

- amostragem quantitativa e qualitativa.
- amostra íntegra, permitindo estratificação e estudos ao longo do perfil vertical do sedimento.
- perturbação mínima da interface sedimento água.
- amostrador adequado para organismos que se enterram profundamente em sedimento mole.
- o pequeno tamanho amostral permite maior número de replicatas a serem analisadas em curto período de tempo.
- existem vários modelos (por ex.: fechamento por gravidade ou mensageiro) e diâmetros disponíveis.

- pode apresentar válvulas de funcionamento automático que previnem a perda da amostra.
- baixo risco de contaminação por uso de material inerte e tubos removíveis.
- aqueles que operam por gravidade podem apresentar problemas de funcionamento e ocasionar perda da amostra.
- área de amostragem limitada, requerendo repetição da operação e retirada de tubos.
- Não permite precisão na estimativa da biomassa bentônica.
- o modelo múltiplo é mais indicado para análise de comunidades bentônicas.
- é necessário cuidado no manuseio para evitar perda de sedimento.
- O diâmetro do tubo do amostrador pode restringir o tamanho dos organismos coletados, como bivalves e gastrópodos de maiores dimensões.

Usos:

- em substrato fino e compacto.

### **3.2 Coleta, armazenamento e transporte**

Amostras obtidas com pegadores ou testemunhos, que cheguem à superfície vazando ou transbordando de sedimentos, devem ser descartadas, já que a perda de material é evidente. Considerando que a maior parte dos organismos concentra-se nos 10 cm superiores do sedimento, para uma amostra adequada o equipamento deverá estar preenchido com cerca de 2/3 a 3/4 de material. A água que recobre o sedimento pode ou não ser coletada, dependendo do objetivo da amostragem. Se a análise for considerar a epifauna ela deverá ser coletada, se for uma análise da infauna, como em alguns estudos de qualidade de sedimentos, essa água deverá ser sifonada e descartada. Nas amostragens da rede de monitoramento do estado de São Paulo a epifauna é considerada. Amostras obtidas com pegadores, testemunhador ou substrato artificial podem ser acondicionadas diretamente em sacos plásticos resistentes (foto 8). Sugerimos o uso de sacos duplos (sobrepostos), já que o próprio pegador, de metal, pode furar o saco interno.

### Foto 8 - Coleta de amostra de sedimento para análise de comunidade bentônica



Fonte: Paulo Lobeira (2001)

A fixação deve ser realizada em campo, com formalina neutralizada (com bórax ou bicarbonato de sódio) em volume tal que a concentração final na amostra atinja de 4 e 10%. Ou seja, cerca de 100 mL para cada litro de amostra. A fixação em campo previne a continuidade de processos interativos entre os organismos, como a predação, e a decomposição da amostra, que modificariam o resultado final.

**CUIDADO:** O formol é uma substância volátil, tóxica e cancerígena. Portanto, cuidado com sua manipulação e armazenamento, assim como das amostras em que foi utilizado, para não correr riscos de saúde e não contaminar amostras destinadas a análise de outros parâmetros, especialmente para ensaios de toxicidade e mutagenicidade.

Os sacos, quando usados duplos, devem ser fechados separadamente, com fita adesiva grossa.

No transporte deve-se evitar a colocação de materiais pesados e/ou pontiagudos sobre os sacos e o transbordamento dos potes, caso as amostras tenham sido assim acondicionadas (foto 9). E, havendo coleta de outras variáveis, principalmente de medidas de efeitos tóxicos ou mutagênicos, as amostras de bentos não devem ser armazenadas juntas, assim como o manuseio do formol no barco deve ser cuidadoso de forma a evitar a contaminação das outras amostras.

### Foto 9 - Acondicionamento das amostras para transporte



Fonte: Mônica Luisa Kuhlmann (2001)

## 4 MÉTODOS DE ANÁLISE

As amostras de sedimento coletadas em campo devem ser preparadas antes de se iniciar a análise propriamente dita, uma vez que partículas finas de sedimento dificultam e até impossibilitam a recuperação dos organismos que compõem a comunidade.

### 4.1 Preparo da amostra

Após a coleta, as amostras de sedimento devem ser lavadas com água de torneira em rede com malha de seleção previamente escolhida segundo os objetivos do projeto. Este procedimento reduz o volume da amostra ao eliminar partículas orgânicas e inorgânicas finas, o que também facilita a visualização dos organismos. Para biomonitoramento são geralmente empregadas aberturas de malha de 0,5 - 0,6 mm, enquanto malhas mais finas (p. ex. 0,25 mm) encaixam-se melhor às metas do levantamento faunístico. A CETESB padroniza em seu programa de biomonitoramento a **malha de 0,5 mm**.

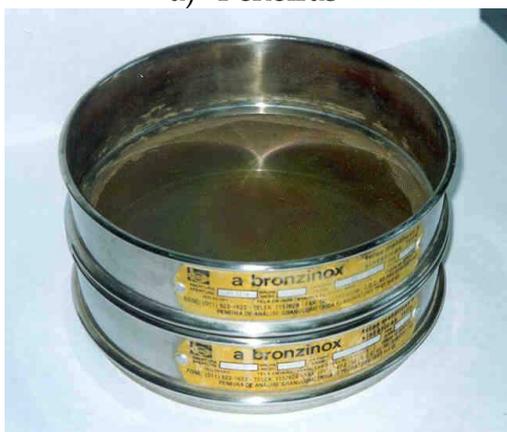
A lavagem da amostra pode ser realizada em campo ou em laboratório, de acordo com a melhor logística de trabalho de campo, a ser definida no final do planejamento. Por exemplo, quando as amostras forem de locais muito distantes do laboratório e/ou muito numerosas, a lavagem em campo facilitará o transporte.

Em campo ou laboratório a lavagem deve ser realizada preferencialmente em pia, com água corrente, e os cuidados devem centrar-se na ausência de perda de parte do material amostrado pelas bordas da rede, tanto na transposição do material do saco para a rede quanto por transbordamento, e na quebra dos

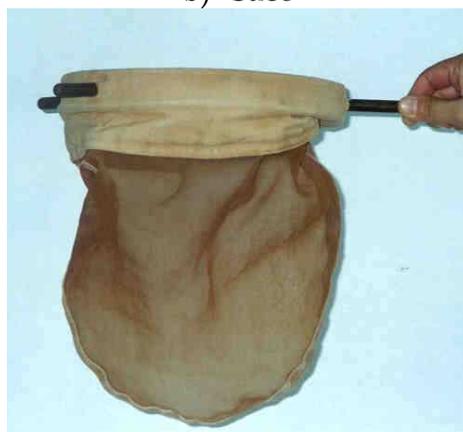
organismos, que compromete sua identificação. Para tanto, a rede deve estar apoiada e não se deve inserir material até sua boca. Redes na forma de sacos são mais eficientes e previnem melhor o transbordo que peneiras rígidas (foto 10) e o uso de baixa velocidade de fluxo da água corrente ou chuveirinhos evitam danos aos organismos. Na confecção dos sacos é importante evitar dobras e costuras internas, onde os organismos possam se prender ou enroscar.

### Foto 10 - Material para lavagem de amostras de macroinvertebrados

a) Peneiras



b) Saco



Fonte: Helena Mítiko Watanabe (2002)

A areia fina presente na amostra pode entupir a trama da rede, tornando a lavagem mais demorada. Além disso, a areia danifica muito os organismos por fricção, dificultando o trabalho posterior de identificação. Elimina-se mais facilmente a areia fina da amostra, sem danificar tanto os organismos, mergulhando a rede de lavagem em balde com água e passando a mão gentilmente na superfície externa desta para desobstruir a malha. Cuidado para não deixar extravasar o material pela boca da rede.

Folhas e galhos podem ser subtraídos da amostra lavando-os com cuidado na rede. Atenção para recuperar organismos fixos (ex. Bryozoa) ou que colonizem o interior oco dos troncos (ex. Trichoptera e Chironomidae).

Após a lavagem, o preservativo pode continuar a ser o formol 4-10% mas, por uma questão de saúde do analista, é preferencial trocá-lo pelo álcool 70 °GL, em volume tal que a proporção entre a amostra e o preservativo não ultrapasse 1:2 (1/3), principalmente quando houver muito material orgânico. Amostras que resultem em mais de um pote devem ter em suas etiquetas a anotação dos volumes (p. ex. 1/3, 2/3 e 3/3).

O uso de um corante (Rosa de Bengala ou Floxina B) otimiza a etapa de triagem, que consome a maior parte do tempo da análise de comunidade bentônica, mas pode dificultar a identificação de alguns organismos (foto 11). Segundo Mason e Yevich (1967) o uso de corante pode economizar até 50% do tempo da triagem

e boa parte da cor, que atrapalha a identificação, pode ser retirada do espécime se este for mergulhado em etanol 95%. Os mesmos autores relatam que o corante Rosa de Bengala, além de apresentar coloração mais intensa, tinge mais rapidamente (em 24 horas) que a Floxina B (48 horas).

**CUIDADO:** O corante Rosa de Bengala é mutagênico e deve ser manipulado com luvas.

**Foto 11 - Etapas de preparação de amostras de bentos**

a) Lavagem do sedimento



b) Lavagem de folhas



c) Amostra corada



Fonte: CETESB; Mônica Luisa Kuhlmann (2002)

Amostras com muito material inorgânico grosseiro (cascalho e areia) ou com muitos torrões de argila podem ser flutuadas em solução supersaturada de sal de cozinha (foto 12). O procedimento deve ser repetido por três vezes, reutilizando-se a solução retida em béquer, ou até que não se verifiquem perdas. Por último pode-se realizar uma lavagem da amostra com água de torneira. Cuidado para não manter por muito tempo os organismos em contato com a solução, que pode provocar murchamento e dificultar a identificação. O material inorgânico deve ser triado a olho nu para verificação de perdas, principalmente de moluscos e tricópteros, dotados de conchas e abrigos, respectivamente, que tendem a funcionar como lastro e manter esses organismos em meio à areia que será descartada. Essa visualização será facilitada se a amostra tiver sido previamente corada. No caso de amostras com torrões, após a flutuação, retornar o material para a rede e desmanchá-los gentilmente com as mãos, triando o material restante em busca de organismos cavadores.

### Foto 12 - Flutuação de amostras

a) Preparo da solução salina supersaturada



b) Amostra na solução



c) Revolvimento da amostra



d) Retenção do sobrenadante em rede



e) Retirada do sobrenadante da solução



f) Lavagem em água corrente do material retido



Fonte: CETESB; Mônica Luisa Kuhlmann (2002)

## 4.2 Análise da amostra

A análise da amostra propriamente dita é realizada em duas etapas que podem ou não ser concomitantes: a triagem, que consiste na separação dos macroinvertebrados aquáticos dos detritos vegetais e das partículas inorgânicas dos sedimentos e a identificação e contagem (para amostras quantitativas) dos táxons.

### 4.2.1 Triagem

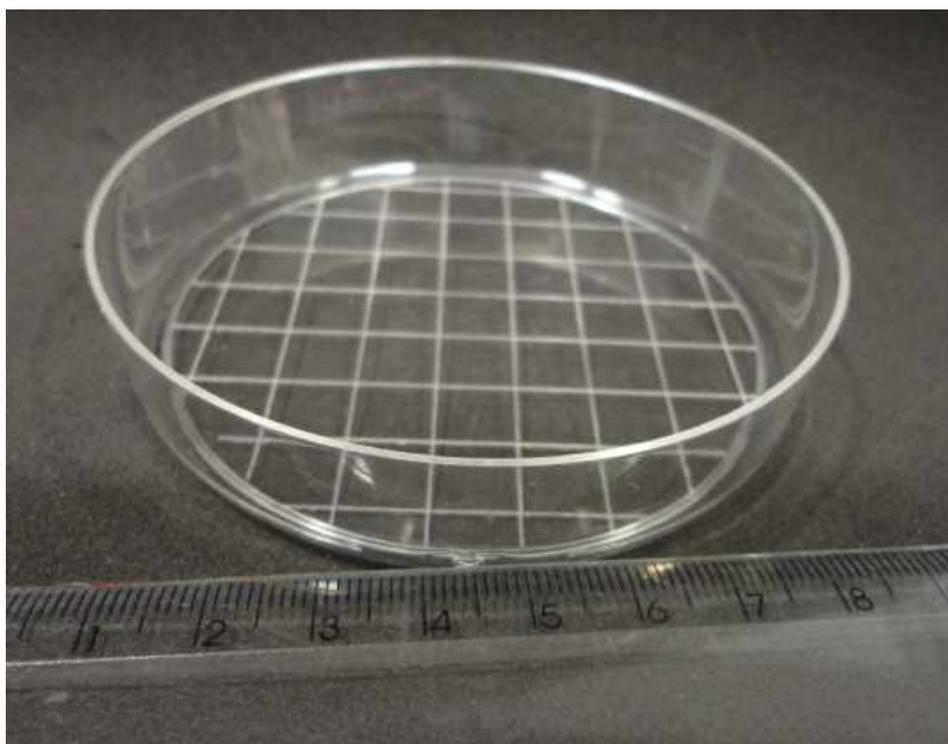
A triagem consiste na separação dos macroinvertebrados dos detritos vegetais e das partículas inorgânicas da amostra. Pode ser realizada integralmente a olho nu, em bandeja de fundo branco, de fundo quadriculado ou não, com ou sem base iluminadora; parcialmente a olho nu, para separação do material mais grosseiro, aliada a uma inspeção mais fina em busca de indivíduos de menor tamanho, sob lupa (microscópio estereoscópico); ou integralmente sob lupa. Dependerá do objetivo do estudo, da malha de seleção empregada, do nível de identificação requerido e das características da amostra.

Colheres e pinças de ponta grossa e fina (de relojoeiro, números dois e três) são utilizadas como ferramentas de manipulação da amostra. Alguns profissionais também se utilizam de pincéis, principalmente para a captura de organismos frágeis, como pequenos moluscos e microcrustáceos.

Para amostras coradas é necessário realizar uma lavagem prévia antes do início da triagem para a retirada do excesso de corante e assim se efetivar o contraste entre os indivíduos corados e o material (orgânico e vegetal) não corado.

Sob a lupa, a amostra é passada aos poucos, em pequenas subamostras homogeneamente distribuídas em placas de Petri que, para garantir a leitura de toda a amostra, podem ser em material plástico descartável e ter seu fundo quadriculado em campos de, por exemplo, 1 cm<sup>2</sup> (foto 13). Os campos são passados um a um, na direção que o analista assim padronizar. Mas há outros métodos que atingem o mesmo objetivo, como o uso de um afunilador de amostra.

**Foto 13 - Placa de Petri descartável de fundo quadriculado para triagem**



Fonte: Hélio Rubens Victorino Imbimbo (2012)

#### 4.2.2 Identificação e contagem

A macrofauna bentônica em rios e reservatórios compõe-se essencialmente de Nemertea, Turbellaria, Mollusca (Bivalvia e Gastropoda), Annelida (Oligochaeta e Hirudinea), Bryozoa, Crustacea (Decapoda e Amphipoda), Acarina e Insecta (principalmente Diptera, mas com algumas famílias de Odonata, Ephemeroptera, Trichoptera, Plecoptera, Coleoptera e Lepidoptera).

Outros grupos e muitas famílias de macroinvertebrados restringem-se a ambientes lóticos de cabeceiras, como os insetos Megaloptera e Neuroptera.

Grande parte do trabalho de identificação da macrofauna é realizada sob lupa e em geral baseia-se na visualização de caracteres morfológicos externos.

O nível de identificação a ser empregado variará de acordo com o tipo de estudo. Em levantamentos faunísticos para avaliação de impactos, por exemplo, é fundamental o investimento no refinamento taxonômico, já que diferentes espécies possuem diferentes requisitos ambientais e, conseqüentemente, responderão de formas distintas aos impactos de uma determinada atividade. Além disso, há espécies de invertebrados bentônicos nas listas de invertebrados (terrestres e aquáticos) ameaçados de extinção (MACHADO; DRUMMOND; PAGLIA, 2008), cujas populações estão legalmente protegidas (anexo A).

Por outro lado, em programas de monitoramento o importante será padronizar esse procedimento, de forma que o resultado seja comparável e o retrato da qualidade eficiente.

A discussão sobre o nível de identificação ideal tem ocupado vários pesquisadores também com relação às metas do biomonitoramento (p. ex.: BAILEY; NORRIS; REYNOLDSON, 2001; CHESSMAN; WILLIAMS; BESLEY, 2007). É muito claro que, quanto mais fina a identificação, mais informação se agregará ao dado e mais preciso será o diagnóstico. Por exemplo, segundo Pinto et al. (2009), a utilização de características biológicas e ecológicas das populações que compõem a biota oferece menor variabilidade temporal que o uso de densidades. Embora esta abordagem se mostre promissora, no Brasil ainda enfrenta-se uma grande lacuna de conhecimento sobre a biologia e os requisitos ecológicos das espécies que compõem nossas comunidades bentônicas. Assim, os principais critérios para a escolha do menor nível taxonômico recaem sobre a sensibilidade ao gradiente de degradação e o menor tempo possível para a análise, crucial para a obtenção de uma resposta rápida, que acelere a tomada de ações de controle e que permita a investigação de um maior número de ambientes.

No biomonitoramento de rios de médio e grande porte realizado pela CETESB, **família** é o nível taxonômico padrão, mas alguns táxons são identificados mais grosseiramente, em filo, classe ou ordem, como Bryozoa, Turbellaria/Tricladida e Nemertea, enquanto a família Chironomidae é identificada até o nível taxonômico discernível sob lupa, ou seja, subfamílias (Orthoclaadiinae e Tanyptodinae) e tribos (Chironomini e Tanytarsini). Contudo, para aplicação dos índices de tolerância (T/DT) e sensibilidade (Ssen), os gêneros de Chironomidae, *Chironomus*, *Stempellina*, *Stempellinella* e *Constempellina* (KUHLMANN et al., 2007) são identificados e contados separadamente. Estes gêneros possuem características que possibilitam sua identificação sob lupa. As larvas de espécies de *Chironomus* em geral são grandes, têm corpo avermelhado, possuem dois pares de túbulos abdominais grandes no oitavo segmento

abdominal e algumas também possuem um par de processos laterais na base do sétimo segmento (foto 14). As larvas de *Stempellina* são pequenas, possuem a cabeça achatada e constroem casulos de areia cônicos (foto 15), como as de *Stempellinella* e *Constempellina*. Para estes ambientes, nossos estudos têm demonstrado que a identificação genérica das ordens Ephemeroptera, Plecoptera e Trichoptera (IMBIMBO, 2006), mundialmente considerados indicadores de boa qualidade em riachos, e de Chironomidae (MAZZINI, 2007), que podem predominar, ainda não se oferece compensadora mediante o tempo gasto para a geração da informação. Mas, é possível que, no futuro, com o crescente conhecimento sobre a biologia e a ecologia das espécies bentônicas, o refinamento do dado realmente incremente a sensibilidade do diagnóstico e possa ser usado na necessidade de um diagnóstico mais robusto.

No monitoramento de reservatórios são identificados os gêneros de Oligochaeta e Chironomidae, já que os dois grupos em geral compreendem quase a totalidade da fauna destes ambientes e um nível taxonômico mais grosseiro não permite o discernimento das classes de qualidade necessárias ao diagnóstico. A identificação da maioria dos gêneros destes dois táxons é feita sob microscópio.

**Foto 14 - Larva de *Chironomus* (Chironomidae: Chironominae)**



Fonte: Hélio Rubens Victorino Imbimbo (2012)

**Foto 15 - Larva e casulo de *Stempellina* (Chironomidae: Chironominae)**



Fonte: Hélio Rubens Victorino Imbimbo (2012)

Nota: A cor se deve ao uso do corante Rosa de Bengala.

Atualmente há uma grande disponibilidade de chaves de identificação, encontradas em livros ou publicadas em revistas e *sites*, que auxiliam o trabalho de identificação. Materiais desenvolvidos para os territórios brasileiro e sul-americano devem ser preferidos ao uso de chaves norte-americanas e de outros continentes, que podem ser utilizados, mas com critério. Muitas famílias, gêneros e espécies não ocorrem no Brasil e vice-versa. Nunca deixe de checar a listagem de famílias ou gêneros presentes no país. Já existem várias listas organizadas por especialistas de diferentes grupos de organismos (ver Referências para Identificação Taxonômica).

Muitos grupos exigem o uso de espécimes maduros ou de último ínstar para identificação, uma vez que alguns caracteres desenvolvem-se tardiamente. É fundamental seguir a diretriz da chave de identificação utilizada quanto a este critério, caso contrário, o risco de resultado errôneo será maior. Assim, espécimes em estágio de desenvolvimento abaixo do requerido pela chave deverão ser mantidos no nível taxonômico mais grosseiro em que sua correta identificação for segura.

O que identificar também é uma questão pertinente, especialmente nas amostragens quantitativas. Quando o foco for o levantamento da macrofauna, com o uso de redes de malha 0,5-0,6 mm, como no biomonitoramento de rios e reservatórios da CETESB, indivíduos da meiofauna e até da microfauna eventualmente capturados e observados podem ter suas presenças registradas, mas nunca suas densidades estimadas. Isto porque a malha aplicada permitirá

que grande parte da população seja perdida na lavagem e um erro operacional estará associado ao valor de densidade que se obtenha. Similarmente, formas inativas da população, como pupas, casulos e gêmulas podem ter as presenças registradas, mas não comporão a tabela de densidades das populações, já que são fases diferentes das mesmas populações cujas densidades foram estimadas como larvas ou adultos.

O tipo de coleta e preparo do material muitas vezes danifica os espécimes. Neste caso, é preciso padronizar o que ou como será realizada a quantificação das famílias ou gêneros. Nemertíneos, turbelários e oligoquetos, por exemplo, quebram com facilidade.

Para Nemertinea, pode-se padronizar a contagem pela porção anterior, que apresenta os ocelos e a probóscide.

No caso de Turbellaria, a melhor forma de quantificação é pela contagem da faringe muscular, que sai da metade anterior ventral do corpo, mas pode-se optar pela contagem da cabeça.

Já para Oligochaeta a contagem requer uma maior padronização, que dependerá da família. Na identificação e contagem de Tubificinae é aconselhável que se utilize a parte anterior do corpo onde, para algumas espécies se desenvolve, no XI segmento, a bainha penial em indivíduos maduros, estrutura essencial para sua identificação. Para Naidinae e Opistocystidae, tanto a parte anterior quanto a posterior serão fundamentais para a determinação do gênero. Assim, para os espécimes quebrados aconselha-se a contagem separada das partes (anterior e posterior), para posterior definição. Por exemplo, a família Opistocystidae caracteriza-se pela presença de três apêndices caudais de tamanhos variáveis no final do abdômen (foto 16). No entanto sua porção anterior, com quetas capilares desde o segmento II e presença de uma probóscide torna-o confundível com o gênero *Pristina* (Tubificidae-Naidinae). Em amostras em que se evidencie, pelos espécimes inteiros, a presença dos dois táxons, contamos separadamente as porções posteriores de Opistocystidae (com três caudas) e as porções anteriores que podem ser Opistocystidae ou *Pristina*. No final, são considerados *Pristina* apenas as partes anteriores que sobram da subtração com as porções anteriores de Opistocystidae. Similar procedimento pode ser seguido na separação e contagem de espécimes quebrados de *Dero* e *Nais*. Além disso, Aelosomatidae, Naidinae e Opistocystidae reproduzem-se assexualmente por fissão, podendo formar cadeias de indivíduos (foto 17). Neste caso, é preciso padronizar se, na quantificação da população, será considerado apenas os organismos livres, totalmente diferenciados, ou cada membro da cadeia.

**Foto 16 - Opistocystidae. A cor se deve ao uso do corante Rosa de Bengala**



Fonte: Mônica Luisa Kuhlmann (2012)

Nota: Setas apontam apêndices caudais e probóscide.

**Foto 17 - Reprodução assexuada em *Dero* (Tubificidae: Naidinae)**



Fonte: Hélio Rubens Victorino Imbimbo (2012)

Nota: A cor se deve ao uso do corante Rosa de Bengala. A seta indica a região da fissão.

Algumas vezes ocorrem nas amostras espécimes de Hirudinea – Glossiphoniidae com filhotes aderidos ao abdômen. Neste caso, apenas o indivíduo adulto deve ser contado, já que os filhotes ainda são dependentes da mãe e parte deles pode vir a morrer antes de se tornar membro livre da

população. Porém, se os filhotes forem encontrados livres na amostra serão contabilizados.

Para Bryozoa, que forma colônias, cada indivíduo ou zoóide é contado separadamente (foto 18).

**Foto 18 - Colônia de Bryozoa com dois zoóides**



Fonte: Hélio Rubens Victorino Imbimbo (2012)

Nota: A cor se deve ao uso do corante Rosa de Bengala.

E, finalmente, na contagem de Mollusca é preciso confirmar se o espécime estava vivo no momento da coleta, quebrando a concha até ser observada sua parte mole. Como a concha é importante na identificação, esta deve ser realizada antes da contagem. Principalmente para este grupo taxonômico, as espécies exóticas invasoras e ameaçadas de extinção devem ser identificadas e consideradas como informação adicional ao diagnóstico de qualidade (anexo B).

Para o cômputo final de riqueza e diversidade de espécies, espécimes identificados mais grosseiramente do que o requerido, até por dificuldade na identificação (espécimes muito pequenos ou quebrados), só serão considerados se nenhuma identificação no nível exigido foi possível. Caso contrário, serão computados como sendo daquela família identificada (se algumas características se assemelharem) ou extraídos da análise, já que poderíamos estar considerando o mesmo táxon duas vezes. Por exemplo, se não foi possível identificar a família de três espécimes de Bivalvia, que se apresentaram em más condições de identificação, e nenhum outro espécime possibilitou a definição de família dentro deste grupo, os três espécimes serão considerados como um táxon único (Bivalvia), de família não identificada, nos cálculos dos índices de

riqueza e diversidade. Porém, se forem encontrados indivíduos de Corbiculidae e algumas características combinarem, os três serão somados a esta família. Caso contrário, se persistir a dúvida sobre a inserção dos três em Corbiculidae, eles serão extraídos da análise.

O dado bruto deve ser registrado em formulário próprio que identifique a amostra e a análise (fig. 1).



sejam comparadas. Para tanto, é necessário conhecer a área de amostragem, mais facilmente calculável para amostradores de área rígida, como os pegadores Ponar e Ekman. Para os pegadores van Veen e Petersen, ela deve ser estimada com o equipamento em descanso sobre superfície lisa e plana. Obviamente o substrato real dificilmente será plano e liso e, conseqüentemente a área da mordedura variará mais nestes casos. No entanto, essa variabilidade é impossível de ser determinada. Estabelecida a área de amostragem é só aplicar uma regra de três para determinar o fator de multiplicação do pegador para a transformação em m<sup>2</sup>. Por exemplo: para uma área de 20 x 20 cm = 400 cm<sup>2</sup> = 0,04 m<sup>2</sup>, cada indivíduo contado na triagem equivalerá a 25 ind./m<sup>2</sup>.

### 4.3 Subamostragem

Amostras com altas densidades de uma ou poucas populações bentônicas, estrutura típica de ambientes submetidos a cargas elevadas de esgotos domésticos, podem ser subamostradas na triagem, na identificação ou na contagem. Um subamostrador ou quarteador em "L", com comprimento dos lados iguais ao raio da placa de Petri, pode ser utilizado para este fim (foto 19). A amostra é distribuída homogeneamente na placa de Petri e o quarteador é inserido aleatoriamente na placa. Os táxons que ocorrem em superpopulação serão retirados e contados apenas no ¼ delimitado, enquanto os outros podem ser triados e contados integralmente. Organismos "cortados" pelo subamostrador devem ser contados apenas se sua parte anterior estiver na área de contagem. Não esquecer que as densidades finais dos táxons subamostrados corresponderão ao resultado da contagem multiplicado por quatro! Este método de subamostragem garante a continuidade do caráter quantitativo da análise e pode ser usado de uma vez só para a amostra toda. Neste caso, a amostra é homogeneamente espalhada em uma bandeja branca. Um quarteador com dimensões compatíveis com o tamanho da bandeja é então utilizado para separar a porção a ser trabalhada (KLEMM et al., 1990).

**Foto 19 - Subamostrador em "L"**

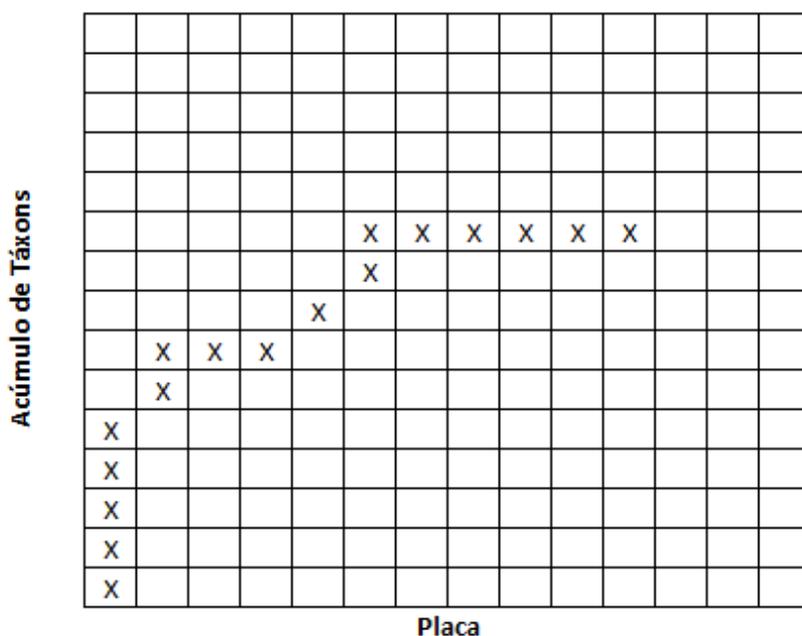


Fonte: Mônica Luisa Kuhlmann (2002)

Outros métodos de subamostragem podem tornar o dado semi-quantitativo, perdendo a possibilidade de transformação em densidades absolutas, mas

mantendo seu uso em termos de abundâncias relativas. Este é o caso da contagem de um número mínimo de indivíduos, quando não associado a uma porcentagem ou parcela da amostra total. A literatura (por exemplo, KLEMM et al., 1990) define como suficientes a identificação e contagem de 100 a 400 organismos como método de subamostragem. Se a estimativa de riqueza for importante para o diagnóstico, é aconselhável aliar o método com uma curva de acúmulo de espécies/táxons (figura 2), usando como unidade amostral o conteúdo de uma placa de Petri. Quando a curva se estabilizar e o número mínimo de organismos a ser contado (p. ex. 400) for atingido, encerra-se a análise. Um critério de estabilização deve ser assumido (por exemplo, após cinco placas sem alteração de S).

**Figura 2 - Curva de acúmulo de táxons**



Fonte: Mônica Luisa Kuhlmann (2012)

Quando a densidade de organismos a serem identificados for muito elevada é possível utilizar uma técnica de subamostragem nesta etapa, em que apenas uma parcela dos organismos é submetida ao trabalho de identificação, sendo o valor total extrapolado segundo as proporções obtidas na subamostra. Para tanto, é possível proceder a uma separação prévia em grupos morfológicos em lupa e posterior identificação de uma parcela (10 a 50%, dependendo da densidade total e da segurança do analista). Se o grupo se revelar homogêneo, ou seja, estiver composto de um único gênero ou espécie, o número de organismos contados para o grupo será a densidade do táxon aí identificado. Se o grupo se mostrar heterogêneo, significa que os caracteres morfológicos utilizados na separação não foram eficientes. Neste caso, pode-se rever o material em busca de novas diferenças e separações ou extrapolar o número total na proporção identificada de organismos. Essa última opção pode ser

utilizada desde o início do procedimento, mas gera mais insegurança quanto à perda de táxons raros. Aliás, para que táxons raros não deixem de ser observados e ter sua presença registrada para o ambiente em estudo, aconselha-se o uso da subamostragem apenas para a contagem de táxons dominantes.

#### 4.4 Preparação de lâminas

A identificação mais fina de alguns grupos, como Chironomidae e Oligochaeta requererá preparo de lâminas para análise em microscópio.

É importante escolher o meio mais apropriado para cada táxon e conhecer previamente a posição que o espécime deverá ser arranjado na lâmina. Existem meios temporários, de curta (água, glicerina, ácido láctico 70%) e média (CMC-9, CMC-10, Hoyer, lactofenol) duração, e meios para preparação permanente (bálsamo do Canadá e Euparal).

Os meios prontos, CMC-9 e CMC-10 são importados e indicados para Chironomidae e Oligochaeta, respectivamente, mas têm apresentado problema de formação de “craquelado” com o tempo.

Para Chironomidae, o **meio de Hoyer** é o mais indicado e facilmente preparado, segundo procedimento abaixo, descrito em Trivinho-Strixino (2011):

##### ❖ Material:

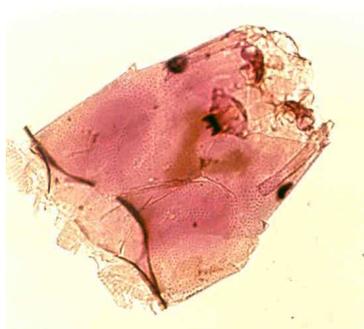
- ✓ 30 g de goma arábica;
- ✓ 200 g de hidrato de cloral;
- ✓ 20 mL de glicerina;
- ✓ 50 mL de água destilada.

❖ Forma de preparo: Adicionar a goma arábica na água e deixar dissolver por cerca de 24h. Acrescentar o hidrato de cloral e deixar a solução em repouso até que dissolva totalmente. Acrescentar a glicerina e filtrar em algodão de vidro.

Os espécimes, preferencialmente de 4º instar (TRIVINHO-STRIXINO, 2011), devem ser decapitados com a ajuda de pinças de pontas finas, agulhas ou estiletos, e as cabeças montadas em lâmina em face ventral, de forma a permitir a visualização das peças bucais. Sugere-se que a decaptação dos organismos seja feita sobre a lâmina já com o meio de preparação, de modo a evitar que as cabeças destacadas sejam perdidas. Os corpos devem ser removidos da lâmina após a retirada das cabeças. O material deve ser coberto com uma lamínula e uma leve pressão sobre esta assegurará a exposição e, conseqüentemente, a visualização, das peças bucais necessárias para a identificação. Na identificação genérica de Tanypodinae e Orthocladiinae, os corpos também devem ser montados. Para conseguir o foco desejado e necessário, peças de diferente espessura não devem ficar sob a mesma lamínula. Assim, nunca se deve juntar na mesma lamínula corpo e cabeça de um espécime ou cabeças de diferentes

tamanhos. Para tanto, é importante que o analista tenha registrado exatamente o que está montado em cada lamínula e manter alguma ordem em suas preparações. Por exemplo, na montagem de vários espécimes de Tanypodinae é possível organizar na mesma lâmina uma lamínula de cabeças e outra de corpos, a segunda, na mesma sequência da primeira. Alguns gêneros possuem morfologia facilmente reconhecível em lupa e não necessitarão de montagem em lâmina. É o caso de *Coelotanypus*, de cabeça tipicamente “pontuda” em que, nos espécimes de maior porte, é possível visualizar o par de ganchos entre o terceiro e o quarto segmentos. *Tanypus stellatus*, que possui prolongamentos laterais no penúltimo segmento abdominal. E algumas *Labrundinia* que exibem espinhos laterais e manchas, em forma de Y, na face ventral da cabeça (foto 20).

**Foto 20 - Cápsula cefálica de *Labrundinia* (Chironomidae - Tanypodinae)**



Fonte: Mônica Luisa Kuhlmann (2002)

Para Oligochaeta o meio deve ser menos viscoso, de forma a permitir alterações na posição do espécime. Meios de curta duração servem a este propósito, porém, o lactofenol é o meio mais apropriado, segundo o especialista Dr Roberto da Gama Alves (UFJF) (com. pess.), mas seu uso deve ser cuidadoso, pois o fenol é uma substância reconhecidamente cancerígena. No seu preparo, basta misturar:

- ✓ 100g de fenol;
- ✓ 100mL de ácido láctico;
- ✓ 200mL de glicerina;
- ✓ 100mL de água.

Segundo o Dr Alves, a visualização das quetas será melhor se a lâmina for mantida em estufa a 30-40 °C por poucos minutos a até três dias. O lactofenol é higroscópico e pode ser guardado por poucos meses no escuro ou em frasco âmbar (BRINKHURST; MARCHESE, 1989).

**CUIDADO:** Evitar a inalação do lactofenol utilizando máscaras, pois o fenol é cancerígeno.

Para evitar a formação de bolhas, a lamínula deve ser posicionada obliquamente na borda do meio e deslizada gentilmente para baixo. Ocorrendo bolhas, se estas estiverem atrapalhando a visualização dos caracteres, é possível retirá-las pressionando levemente a lamínula de forma a empurrá-la para a borda. Se este procedimento não for eficaz, será necessário refazer a montagem. Bolhas que não estiverem atrapalhando o trabalho de identificação podem ser mantidas na preparação.

Para maior durabilidade de preparações em meios semi-permanente e permanente, após sua secagem a lamínula deve ser selada com esmalte de unha, preferencialmente, transparente.

## 5 AVALIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE DEFORMIDADES EM MENTO DE *Chironomus*

Embora ocorram deformidades em outros gêneros de Chironomidae, o gênero *Chironomus* foi escolhido por apresentar maior sensibilidade a este efeito (HUDSON; CIBOROWSKI, 1996b) e por ser tolerante às condições extremas de baixa oxigenação, já que é bastante comum que ambientes com forte impacto químico também sofram a influência de efluentes domésticos. Além disso, é um gênero de tamanho grande, de coloração avermelhada e de fácil identificação. A maioria das espécies de *Chironomus* apresenta larvas com dois pares de longos túbulos no 8º segmento abdominal e as mais resistentes também exibem um par de processos laterais no 7º segmento abdominal. Não é só no mento que são observadas deformidades em larvas de Chironomidae, contudo é nessa estrutura que se pode evidenciar melhor as deformidades de efeitos da preparação da lâmina para microscopia (WARWICK et al., 1987).

A avaliação de frequência de deformidades só será possível quando ocorrer no local amostrado uma população numerosa e madura do gênero *Chironomus* (Diptera: Chironomidae), já que se estabeleceu um mínimo de 100 larvas para a análise (BURT; CIBOROWSKI; REYNOLDSON, 2003). Os espécimes podem ser obtidos a partir das três réplicas que compõem a amostra para a análise de comunidade, ou com amostras adicionais até que este número seja atingido. É importante salientar que este esforço adicional só será recompensador se houver de fato no ambiente uma população densa do gênero. Além do número, foi padronizada a utilização de larvas de 4º ínstar, mais facilmente caracterizadas em sua fase final, quando exibem espessamento no tórax (foto 21). A utilização de larvas em seu último estágio de desenvolvimento garante sua exposição mais prolongada aos agentes causadores de deformidade.

### Foto 21 - Larva de *Chironomus* em 4<sup>o</sup> ínstar



Fonte: Fabiana Bonani (2004)

Nota: A seta aponta o espessamento torácico.

O mento normal do gênero *Chironomus* apresenta um dente central trífido e seis laterais (foto 22a). Para fins de padronização, são consideradas deformidades: “gap”, bifurcação do dente central, falta e excesso de dentes (foto 22b a e). Para não confundir uma quebra no dente (foto 22f) com a deformidade do tipo “gap” basta observar a borda da falha. Se for lisa é um “gap” e se for rugosa uma quebra, que não entra no cômputo da frequência de deformidade.

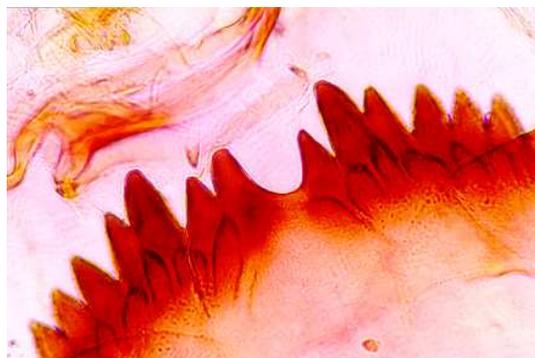
A frequência de deformidade é simplesmente a porcentagem de indivíduos que apresentaram um ou mais tipos de deformidades com relação ao total analisado.

**Foto 22 - Mentos de *Chironomus* em condições normal e deformados**

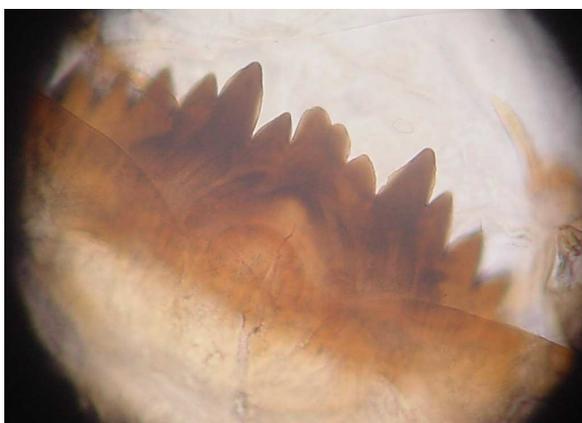
a) Normal



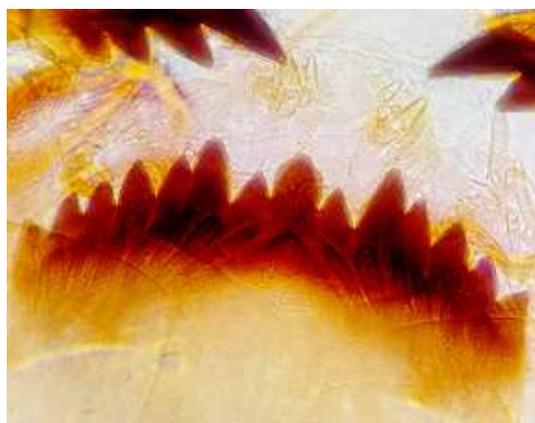
b) Deformidade do tipo "gap"



c) Bifurcação do dente central



d) Falta de dente lateral



e) Excesso de dentes laterais



f) Quebra de dente



Fonte: Mônica Luisa Kuhlmann e Fabiana Bonani (2004)

Notas: normal (a), com deformidades do tipo "gap" (b), bifurcação de dente central (c), falta (d) e excesso de dentes laterais (e) e quebrado (f).

## 6 SAÚDE OCUPACIONAL

Algumas etapas da análise de comunidade bentônica exigirão o uso de equipamentos de proteção individual (EPI) ou coletivo (EPC).

Na coleta, por requerer o uso de embarcações, a segurança do trabalho dependerá em grande parte da habilitação e treinamento dos pilotos. Estabilizar um barco em situações de forte correnteza, evitar pedras e troncos submersos, agir rapidamente em emergências são capacitações desejáveis ao piloto e copiloto da embarcação. A presença de dois membros da equipe com habilitação para a navegação também é garantia de segurança, já que numa emergência ou na impossibilidade temporária do piloto conduzir a embarcação sempre haverá o segundo piloto para fazê-lo. Uma pessoa que fique na margem, como apoio em terra, também é desejável, principalmente em ambientes de grandes proporções, como o são vários reservatórios do estado de São Paulo. Além disso, é importante zelar pela manutenção do próprio barco e de seus equipamentos de proteção coletiva, como botes salva-vidas, boias circulares, sinalizadores e aparelhos de comunicação à distância. Este material deve estar disponível, especialmente em embarcações de maior porte que naveguem em grandes reservatórios. Os tripulantes devem utilizar EPI, como: colete salva-vidas, luvas, óculos e protetor solar.

Os técnicos coletores também devem ser capacitados no manuseio dos equipamentos. Os mecanismos de fechamento dos pegadores muitas vezes operam de forma violenta para evitar o bloqueio das garras por pedras, galhos ou outros detritos. Travas de segurança devem ser adicionadas a estes equipamentos para evitar riscos, inclusive de amputação, em sua operação.

No campo, os técnicos devem utilizar luvas de proteção e, no momento da fixação da amostra com formol, devem também colocar um respirador descartável para evitar inalação de vapores deste composto, comprovadamente cancerígeno.

Em laboratório a amostra deve ser lavada em pia, sob um exaustor ou capela e o técnico deve utilizar avental, luvas de borracha e, se preferir, também um avental de plástico, do tipo utilizado por açougueiros.

Usar as luvas sempre que for manipular o corante rosa de bengala ou retirá-lo da amostra, já que este é mutagênico.

Para a saúde do analista é aconselhável manter a amostra, após lavagem, em álcool 70-80 °GL.

A análise de macroinvertebrados não exige muita adequação na estrutura física do laboratório. É necessário uma bancada para acomodação dos equipamentos ópticos (lupa e microscópio) ou da base iluminadora e de uma pia. Nesta questão, em relação à saúde ocupacional, um dos focos principais na análise de bancada será com a ergonomia, ou seja, com o uso de bancadas e cadeiras apropriadas para a correta postura diante dos equipamentos ópticos. Além disso, o tempo prolongado de observação em microscopia, na direção de um campo iluminado ou, às vezes, diretamente para a fonte luminosa, pode causar problemas com a visão. O analista em geral tende a piscar menos do que o necessário, causando secura nos olhos, e a luz intensa sobre a retina pode

prejudicá-la. Consequentemente é adequado que se realizem breves descansos em intervalos de 40-50 minutos e que o trabalho em bancada ocupe no máximo 70% do trabalho diário do analista.

Amostras já analisadas são descartadas em lixo comum após a retirada de seu conteúdo líquido (álcool).

## 7 SISTEMA DE QUALIDADE ANALÍTICA

A implementação de um sistema de qualidade para análises ambientais assegura a confiabilidade do resultado obtido e fortalece sua aplicação como instrumento legal sendo, portanto, fundamental para os órgãos de controle ambiental. O Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO) acredita análises ambientais segundo a Norma ISO-IEC 17025 (ABNT, 2005), incluindo a análise de comunidade bentônica (ou macroinvertebrados aquáticos). Todos os funcionários devem receber treinamento sobre a Norma e seus requisitos.

O sistema exige uma série de documentações técnicas, nas quais são descritas as metodologias empregadas, e administrativas, que, por exemplo, definem responsabilidades, registram o treinamento dos técnicos e permitem a rastreabilidade do dado.

No primeiro caso encaixam-se o Procedimento Operacional Padronizado (POP) e a Instrução Operacional de Trabalho (IOT). O primeiro documento, único e mais importante para cada análise, deve descrever o método de determinação da variável e o segundo, geralmente em maior número, deve descrever operações em complemento ao primeiro, como por exemplo, a preparação de uma solução ou o uso de algum software.

Administrativamente, deve estar registrado o treinamento de cada funcionário e suas responsabilidades dentro do laboratório. A gerência também deve manter um calendário de manutenção preventiva para equipamentos e outros bens do laboratório. Todos os equipamentos, de campo e de laboratório, devem estar em perfeitas condições de uso.

Para garantir a rastreabilidade do dado, cada amostra recebida no laboratório deve ter o registro de suas condições e do responsável por determinada ação. Por exemplo, um registro de entrada de amostras pode não só identificar todas as amostras que entraram para aquela variável, mas em que data o fizeram, a que projeto pertencem, características de campo que possam ser importantes (como local, profundidade de coleta, tipo do pegador, para definir a área de amostragem) e o responsável pelo recebimento.

**Atenção:** é no recebimento que se identifica se a amostra está em conformidade com os critérios de qualidade que envolvem a coleta e a preservação em campo. Se a amostra não estiver de acordo com os procedimentos estabelecidos ela estará em não conformidade e não deverá ser aceita pelo laboratório, pois erros

analíticos não controlados podem distorcer o resultado final. Exceto se o cliente, após ciência do problema, precise do dado e solicite, por escrito, a análise, mesmo com restrição na qualidade do resultado. Por exemplo, se a amostra não foi fixada em campo e nem mantida em gelo e demorou mais de 24 horas para chegar ao laboratório, ela sofreu um processo de decomposição que também deve ter afetado os organismos da fauna. Consequentemente, o analista pode não ter condição de avaliar se espécimes em mau estado já estariam mortos no momento da coleta ou se morreram no processo de deterioração da amostra.

Todo o tratamento a que a amostra for submetida (por exemplo, a malha da rede de lavagem ou a flutuação com sal), e o responsável pela sua realização também devem estar registrados.

Os responsáveis pelas diferentes etapas da análise (triagem, retriagem, identificação e reidentificação) também devem ser registrados, já que uma mesma amostra pode passar por mais de um analista.

Os cuidados com a qualidade da análise de comunidade bentônica englobam procedimentos relacionados desde a tomada da amostra até a expressão de seu resultado. Qualquer fonte de erro que possa comprometer a fidelidade do resultado à realidade local em investigação deve ser cercada por cuidados, alguns dos quais formarão o Controle de Qualidade Analítico (CQA) da análise.

Para a análise de macroinvertebrados aquáticos foram definidos dois CQAs, um na etapa de triagem e outro na identificação dos organismos:

### **7.1 CQA - triagem**

Todas as amostras triadas devem ser guardadas para posterior avaliação do CQA de triagem. É aconselhável indicar na etiqueta as amostras já triadas e armazenadas para o CQA, de forma a não serem confundidas com aquelas que ainda necessitam de triagem. Neste controle, a cada 10 amostras analisadas por um técnico já capacitado, uma (10%) será sorteada para retriagem por outro técnico. É considerado aceitável um máximo de 5% de perda de organismos (para amostras quantitativas) ou táxons (para amostras qualitativas). A estimativa de perda é calculada segundo as seguintes fórmulas:

Estimativa de perda para amostras quantitativas:

$$\frac{P}{DT} \times 100, \text{ onde } P = \text{número de organismos encontrados na retriagem} \quad (1)$$

DT = densidade total da amostra na triagem

Estimativa de perda para amostras qualitativas:

$$\frac{T}{S} \times 100, \text{ onde } T = \text{número de táxons encontrados na retriagem}, \quad (2)$$

que não haviam sido registrados na triagem

S = número total de táxons na amostra triada

Se a análise efetuada por um técnico treinado exceder o critério de aceitabilidade, outra amostra sua, imediatamente anterior ou posterior, será retriada até que tenha atingido o critério.

Perdas na triagem decorrem de distração, que pode ser eventual, restrita a uma amostra, ou mais frequente, e ter origem ambiental ou pessoal. Se a perda recorrer para um determinado técnico, eventuais causas, como excesso de visitas no laboratório, má ação do corante, mau conhecimento de espécies que compõem a amostra e cansaço, devem ser detectadas e sanadas.

Técnicos em treinamento devem ter 100% das amostras retriadas até que seu trabalho se estabilize dentro da faixa de aceitabilidade. Análises realizadas por estagiários sempre devem ser retriadas por funcionários treinados do laboratório.

## 7.2 CQA - identificação de organismos

Também no controle da qualidade na identificação dos organismos, 10% das amostras identificadas por um biólogo capacitado será revisada por outro, mas apenas no caso do laboratório desejar verificar a variabilidade (ou conflito de identificação) entre os resultados de dois analistas. Neste caso é aceita uma variabilidade de 20%. Este valor foi estabelecido a partir das distorções no índice utilizado para o diagnóstico da qualidade ambiental na rede de monitoramento (o ICB, ver item 8). Para outros usos do dado, outro valor de aceitabilidade deve ser avaliado.

A amostra (preferencialmente a de maior riqueza no lote de 10) é analisada pelo analista 1 e pelo analista 2 (figura 3) e os dois resultados são colocados em paralelo para que se identifique perdas (P = táxon cuja ocorrência o primeiro analista registrou mas o segundo não) e ganhos (G = táxon registrado pelo segundo analista mas não pelo primeiro). Calcula-se, então, o Dimensionamento de Conflito (DC) como:

$$\frac{PG}{S_m} \times 100, \text{ onde } PG = \text{maior valor entre Perdas (P) e Ganhos (G)} \quad (3)$$

$S_m$  = riqueza média das duas leituras

Analistas em treinamento serão habilitados quando concordarem em 90% com a identificação do analista treinado ao nível taxonômico imediatamente superior ao da análise e em 80% ao nível taxonômico da análise. Por exemplo, para



Os resultados do CQA de identificação de organismos podem indicar os grupos taxonômicos de maior dificuldade (grande frequência de conflitos) da equipe e, conseqüentemente apontar para a necessidade de treinamento dos analistas.

O conhecimento do analista na identificação dos grupos taxonômicos que compõem a fauna de macroinvertebrados é chave para a garantia da veracidade e, portanto, da qualidade dos dados. Várias ferramentas podem e devem ser desenvolvidas pelo laboratório para que se mantenha a qualidade de seus resultados. A manutenção e atualização de material bibliográfico relacionado à taxonomia de macroinvertebrados aquáticos, como artigos e livros, é requisito obrigatório, assim como a realização de cursos com especialistas. A capacitação na identificação dos diferentes grupos pelos técnicos pode ser evidenciada não apenas pela apresentação do certificado de comparecimento a um determinado curso, mas também pelo registro de seu aproveitamento em provas que podem se seguir ao treinamento e/ou por ensaios interlaboratoriais de calibração. Porém, neste último caso, no momento não há nenhuma instituição que ofereça tal ensaio no Brasil. O conhecimento de listas de ocorrência dos diferentes grupos taxonômicos auxilia o analista a não cometer erros grosseiros de identificação, principalmente quando este se utiliza de chaves de identificação estrangeiras. A organização de catálogos com informações, desenhos e fotos dos táxons que podem ocorrer na região de abrangência das análises também é de grande auxílio. Muita informação pode ser obtida em *sites* de especialistas. A organização e manutenção de coleções referência de organismos, avalizada por um especialista de cada grupo taxonômico, é um instrumento similar ao usado pelas análises químicas para garantir o bom estado de seus equipamentos e, portanto, tem sido bem aceito pelo sistema de qualidade. A coleção (foto 23) deve receber os cuidados de armazenamento e manutenção similar aos de um museu de zoologia. Por exemplo, armazenamento em local escuro e livre de umidade e revisão periódica do conservante (em geral, álcool 80 °GL). O laboratório pode também manter uma lista de especialistas colaboradores para garantir uma checagem final em uma dúvida que persista mesmo após o uso de todos os recursos do laboratório.

### Foto 23 - Coleção referência para famílias de Trichoptera



Fonte: Mônica Luisa Kuhlmann (2012)

Nota: Organizada e avaliada pelo especialista prof. Dr. Adolfo A. Calor (UFBA).

A emissão de boletins de análise (laudos) deve ser preferencialmente realizada após o término das análises de CQA. Se a emissão ocorrer antes e for detectado um ou mais problemas em alguma análise o cliente ou coordenador do projeto deverá ser avisado e o boletim corrigido e substituído.

Qualquer desvio do procedimento de análise descrito deve ser comunicado ao cliente, que deve se manifestar quanto ao aceite ou não da modificação.

Cópias do boletim e as fichas de coleta e de registro dos dados brutos podem ser armazenados juntos e encadernados de acordo com o projeto e/ou ano, para facilitar sua rastreabilidade. O tempo de armazenamento de um dado é definido no Manual de Qualidade do laboratório sendo, em geral, de cinco anos.

## 8 TRATAMENTO DE DADOS

No diagnóstico da qualidade ambiental de ecossistemas aquáticos, os dados de comunidade bentônica têm o papel de avaliar a qualidade do ambiente em termos de preservação de toda sua biodiversidade. É uma medida ecológica do estado de um corpo d'água que, aliada às medidas físicas, químicas e ecotoxicológicas permite que se verifique se um ambiente está ou não degradado, qual o seu grau de degradação e, muitas vezes também quais poderiam ser as causas da degradação.

Transformar a informação biológica em um número não é tarefa fácil, mesmo porque o universo biológico é complexo e não exato. Mesmo assim, muitos realizaram este feito, dando origem a uma infinidade de índices encontrados na literatura de biomonitoramento (por exemplo, RESH; JACKSON, 1993). Este esforço demonstra a importância desta tradução, que não só permite dimensionar a alteração na biota causada por um estressor, como facilita a comunicação com profissionais de outras carreiras.

Algumas características devem ser verificadas na escolha do índice:

- Seu poder estatístico (CARLISLE; CLEMENTS, 1999), dado em % deve ser elevado, sendo calculado como:

$$\frac{(I_r - I_t)}{CV_r} \quad (4)$$

Onde,

$(I_r - I_t)$  = diferença entre o valor do índice no ambiente referência e no tratamento

$CV_r$  = coeficiente de variação entre as réplicas do ambiente referência

- O coeficiente de variação deve ser baixo entre os dados do ambiente referência.
- Ser sensível ao gradiente de qualidade (CARLISLE; CLEMENTS, 1999), de preferência, fornecendo diferentes respostas aos diferentes estressores.
- Ter relevância ecológica, ou seja, retratar as alterações sofridas pela biota em resposta ao impacto, ao nível populacional ou de comunidade.
- Ser de fácil compreensão e cálculo, de forma a ser claro aos não especialistas.

- Minimizar a variabilidade espacial, com a padronização do habitat.
- Minimizar a variabilidade temporal do dado, com a definição de um período fixo de coleta.
- Evitar a redundância de informação na montagem de um índice multimétrico. Por exemplo, não utilizar dois índices de diversidade.
- Ser de baixo custo. Índices quantitativos em geral custam mais por exigirem réplicas.

Índices multimétricos agregam em um número vários índices (ou métricas), cada qual abordando um aspecto diferente da comunidade alterado em função de impactos de origem antrópica. O primeiro índice deste tipo foi o *Index of Biotic Integrity* (IBI), desenvolvido para a ictiofauna por Karr (1981 apud KLEMM et al., 1990). Em 1989 a USEPA de Ohio (USEPA, 1989) adaptou este índice para macroinvertebrados, denominando-o *Invertebrate Community Index* (ICI), a partir do qual vários outros surgiram. Atualmente é, provavelmente, a linha de diagnose mundialmente mais adotada, tendo absorvido em sua constituição muitos índices bióticos e de comunidade.

Para o monitoramento da qualidade das águas interiores do estado de São Paulo a partir de dados de macroinvertebrados bentônicos de rios e reservatórios, a CETESB desenvolveu e adotou o Índice da Comunidade Bentônica (ICB). Este índice tem este caráter multimétrico e possui versões diferentes para cada tipo de sistema analisado: ICB<sub>RIO</sub> (figura 4), para as comunidades de rios de médio a grande porte; ICB<sub>RES-SL</sub> (figura 5), para comunidades da região sublitoral de reservatórios e ICB<sub>RES-P</sub> (figura 6), para comunidades da região profunda de reservatórios.

**Figura 4 - Índice da Comunidade Bentônica para rios (ICB<sub>RIO</sub>)**

| CLASSE         | PONTO | S       | ICS              | H'              | T/DT            | Ssens |
|----------------|-------|---------|------------------|-----------------|-----------------|-------|
| <b>PÉSSIMA</b> | 5     | AZÓICO  |                  |                 |                 |       |
| <b>RUIM</b>    | 4     | ≤ 5     | ≤ 3,00           | ≤ 1,00          | > 0,75          | 0     |
| <b>REGULAR</b> | 3     | 6 - 13  | > 3,00 - ≤ 9,50  | > 1,00 - ≤ 1,50 | ≥ 0,50 - ≤ 0,75 | 1     |
| <b>BOA</b>     | 2     | 14 - 20 | > 9,50 - ≤ 20,00 | > 1,50 - ≤ 2,50 | > 0,25 - < 0,50 | 2     |
| <b>ÓTIMA</b>   | 1     | ≥ 21    | > 20,00          | > 2,50          | ≤ 0,25          | ≥ 3   |

Fonte: Mônica Luisa Kuhlmann (2012)

**Figura 5 - Índice da Comunidade Bentônica para região sublitoral de reservatórios (ICB<sub>RES-SL</sub>)**

| CLASSE         | PONTO | S       | ICS             | H'              | T/DT          | Ssens |
|----------------|-------|---------|-----------------|-----------------|---------------|-------|
| <b>PÉSSIMA</b> | 5     | AZÓICO  |                 |                 |               |       |
| <b>RUIM</b>    | 4     | 1 - 8   | < 5,00          | ≤ 1,50          | ≥ 0,70        | 0     |
| <b>REGULAR</b> | 3     | 9 - 16  | 5,00 - < 15,00  | > 1,50 - ≤ 2,25 | 0,40 - < 0,70 | 1     |
| <b>BOA</b>     | 2     | 17 - 24 | 15,00 - < 25,00 | > 2,25 - ≤ 3,50 | 0,10 - < 0,40 | 2     |
| <b>ÓTIMA</b>   | 1     | ≥ 25    | ≥ 25,00         | > 3,50          | < 0,10        | ≥ 3   |

Fonte: Mônica Luisa Kuhlmann (2012)

**Figura 6 - Índice da Comunidade Bentônica para região profunda de reservatórios (ICB<sub>RES-P</sub>)**

| CLASSE         | PONTO | S      | ICS             | H'              | T/DT            | Tt/Chi          |
|----------------|-------|--------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| <b>PÉSSIMA</b> | 5     | AZÓICO |                 |                 |                 |                 |
| <b>RUIM</b>    | 4     | 1 - 3  | ≤ 1,00          | ≤ 0,50          | ≥ 0,80          | ≤ 0,03          |
| <b>REGULAR</b> | 3     | 4 - 6  | > 1,00 - ≤ 3,50 | > 0,50 - ≤ 1,50 | ≥ 0,50 - < 0,80 | > 0,03 - ≤ 0,06 |
| <b>BOA</b>     | 2     | 7 - 9  | > 3,50 - ≤ 7,00 | > 1,50 - ≤ 2,00 | ≥ 0,20 - < 0,50 | > 0,06 - < 0,10 |
| <b>ÓTIMA</b>   | 1     | ≥ 10   | ≥ 7,00          | > 2,00          | < 0,20          | ≥ 0,10          |

Fonte: Mônica Luisa Kuhlmann (2012)

Os seguintes índices descritores da estrutura das comunidades bentônicas compõem o ICB:

1. **Riqueza (S)**, sendo simplesmente a soma das categorias taxonômicas encontradas na amostra.
2. **Índice de Diversidade de Shannon-Wiener (H')**, calculado com log em base 2 (WASHINGTON, 1984).
3. **Índice de Comparação Sequencial (ICS)**, (CAIRNS; DICKSON, 1971), determinado por software desenvolvido pelo prof. Dr. Aristotelino Monteiro Ferreira para a CETESB (HENRIQUE-MARCELINO et al., 1992).
4. **Razão Tanytarsini/Chironomidae (Tt/Chi)**, com dados de densidade (USEPA, 1989).
5. **Riqueza de táxons sensíveis (Ssen)**, em que são considerados sensíveis as famílias de Ephemeroptera, Plecoptera, Trichoptera e o gênero *Stempellina* de Chironomidae-Tanytarsini em rios e as famílias de Ephemeroptera, Odonata, Trichoptera e os gêneros *Stempellina*, *Stempellinella* e *Constempellina* de Chironomidae-Tanytarsini em reservatórios.
6. **Dominância de grupos tolerantes (T/DT)**, em que são considerados tolerantes, Tubificidae sem queta capilar, Tubificidae com queta capilar (só *Tubifex*), Naididae e *Chironomus*, em rios e *Limnodrilus hoffmeisteri*, *Bothrioneurum*, *Tubifex*, *Dero*, *Pristina*, *Pristinella* e *Chironomus*, em reservatórios.

Para o cálculo do Índice da Comunidade Bentônica apenas um dos índices de diversidade (H' ou ICS) é considerado, dando-se preferência ao ICS, cuja amplitude de variação é maior. O valor final, que gera o diagnóstico ou a classificação da qualidade do habitat, será simplesmente a média aritmética do valor obtido com a soma dos pontos de cada métrica. Por exemplo, para um determinado ambiente ribeirinho, os valores das métricas foram:

|             |       |
|-------------|-------|
| <b>S</b>    | 8     |
| <b>ICS</b>  | 12,08 |
| <b>T/DT</b> | 0,68  |
| <b>Ssen</b> | 0     |

Os pontos de cada métrica serão:

|             |       |   |
|-------------|-------|---|
| <b>S</b>    | 8     | 3 |
| <b>ICS</b>  | 12,08 | 2 |
| <b>T/DT</b> | 0,68  | 3 |
| <b>Ssen</b> | 0     | 4 |

Então, o  $ICB_{RIO} = 3 + 2 + 3 + 4 = 12 \div 4 = 3$ , portanto a qualidade ecológica deste ambiente será REGULAR.

É importante destacar que o nível de identificação taxonômica, especialmente para Chironomidae e Oligochaeta, difere de acordo com o ambiente. Assim, em rios, em que a fauna bentônica é representada por uma maior variedade de

grupos taxonômicos, a identificação de Chironomidae atinge subfamílias (Tanyptodinae e Orthoclaadiinae) e tribos (Tanyptarsini e Chironomini) e de Oligochaeta, famílias (Opistocystidae, Enchytraeidae, Lumbriculidae, Aelosomatidae) e subfamílias (Naidinae e Tubificinae). Já em reservatórios, onde os dois grupos predominam e, não raramente, representam mais de 80% das comunidades bentônicas, a identificação deve diferenciar seus gêneros.

Na interpretação do resultado de frequência de deformidades em mento de *Chironomus*, consideram-se os níveis naturais destas alterações morfológicas como basais, acima dos quais se evidencia a ação de poluentes. Para o estado de São Paulo, Bonani (2010) sugeriu o valor de 2% como limite entre o natural e o provocado por contaminação química do ambiente, diante da observação de ausência total a 2,4% de deformidades em mento de larvas coletadas em ambientes mais preservados. Por outro lado, considerando que o maior valor encontrado foi de 43% (rio Quilombo) (CETESB, 2005) e que ambientes com forte influência de esgotos domésticos, exibem frequências de 4-6%, como os rios Sorocaba (KUHLMANN et al., 2007) e Jacupiranguinha (CETESB, 2009), foram definidas as seguintes faixas de qualidade (figura 7) para esta métrica:

**Figura 7 – Faixas de qualidade**

| QUALIDADE | FREQUÊNCIA | RELAÇÃO COM O AMBIENTE  |
|-----------|------------|---|
| ÓTIMA     | ≤ 2 %      | Ambiente sem contaminantes que promovam a má formação do mento de <i>Chironomus</i> |
| REGULAR   | 2,1 - 6 %  | Frequência provavelmente provocada por contaminantes diluídos no esgoto doméstico   |
| RUIM      | > 6 %      | Frequência provavelmente provocada por contaminantes químicos lançados ao ambiente  |

Fonte: Mônica Luisa Kuhlmann (2012)

## REFERÊNCIAS GERAIS

ABNT. **NBR ISO/IEC 17025**: requisitos gerais para competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro, 2005.

BAILEY, R.C.; NORRIS, R.H.; REYNOLDS, T.B. Taxonomic resolution of benthic macroinvertebrate communities in bioassessments. **Journal of the North American Benthological Society**, Lawrence, v. 20, n. 2, p. 280-286, june 2001.

BIRD, G.A.; SCHWARTZ, W.J.; JOSEPH, D.L. The effect of  $^{210}\text{Pb}$  and stable lead on the induction of menta deformities in *Chironomus tentans* larvae and on their growth and survival. **Environ. Toxicol. Chem.**, Pensacola, US, v. 14, n. 12, p. 2125-2130, dec. 1995.

BONANI, F. **Avaliação de deformidades morfológicas em larvas de *Chironomus* (Díptera, Chironomidae) na bacia do rio Piracicaba e sua aplicação no biomonitoramento**. 2010. 80 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2010. Disponível em: <[http://www.bdtd.ufscar.br/htdocs/tedeSimplificado//tde\\_busca/arquivo.php?codArquivo=3347](http://www.bdtd.ufscar.br/htdocs/tedeSimplificado//tde_busca/arquivo.php?codArquivo=3347)>. Acesso em: out. 2012.

BRANDIMARTE, A.L. et al. Amostragem de invertebrados bentônicos. In: BICUDO, C.E.M.; BICUDO, D.C. (Org.). **Amostragem em limnologia**. São Paulo: RiMa, 2004. Cap. 13., p. 213-230.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instrução Normativa nº 3, de 27 de maio de 2003. **Diário Oficial da União**: República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, n. 101, 28 mai. 2003. 2003. Seção 1, p. 88-97. Disponível em: <<http://www.in.gov.br/visualiza/index.jsp?data=28/05/2003&jornal=1&pagina=88&totalArquivos=112>>. Acesso em: out. 2012.

\_\_\_\_\_. Ministério do Meio Ambiente. Instrução Normativa nº 5, de 21 de maio de 2004. **Diário Oficial da União**: República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, n. 102, 28 mai. 2004. Seção 1, p. 136-142. Disponível em: <<http://www.in.gov.br/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=136&data=28/05/2004>>. Acesso em: out. 2012.

\_\_\_\_\_. CONAMA. **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Alterada pelas Resoluções nº 370, de 2006, nº 397, de 2008, nº 410, de 2009, e nº 430, de 2011. Complementada pela Resolução nº 393, de 2009. Disponível em:

<<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>>. Acesso em: out. 2012.

BRINKHURST, R.O. **The benthos of lakes**. London: MacMillan, 1974. 190 p.

BRINKHURST, R.O.; MARCHESE, M.R. **Guia para la identificacion de oligoquetos acuaticos continentales de sud y centroamerica**. 2ª ed. Santo Tomé: Asociacion de Ciencias Naturales del Litoral, 1989. 207p. (Colección Climax, n. 6).

BURT, J.; CIBOROWSKI, J.J.H. & REYNOLDSON, T.B. Baseline incidence of mouthpart deformities in Chironomidae (Diptera) from Laurentian Great Lakes, Ontario. **J. Great Lakes Res.**, Duluth, US, v. 29, n. 1, p. 172-80, 2003.

CAIRNS JR., J.; DICKSON, K.L. A simple method for biological assesment on the effects of the most discharges on aquatic bottom- dwelling organisms. **J. Water Pollut. Control Fed.**, Washington, DC, v. 43, n. 5, p. 755-772, may 1971.

CAIRNS, JR., J.; PRATT, J.R. A history of biological monitoring using benthic macroinvertebrates. In: ROSENBERG, D.M.; RESH, V.H. (Ed.). **Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates**. New York: Chapman & Hall, 1993. Chap. 2, p. 10-27.

CARLISLE, D.M.; CLEMENTS, W.H. Sensitivity and variability of metrics used in biological assesment of running waters. **Environ. Toxicol. Chem.**, Pensacola, US, v. 18, n. 2, p. 285-291, feb. 1999.

CETESB. **Avaliação da situação atual de contaminação dos rios Mogi-Guaçu e Pardo e seus reflexos sobre as comunidades biológicas**: relatório técnico. São Paulo, 1980. 3 v.

CETESB. **L5.309**: Determinação de bentos de Água Doce: macroinvertebrados - Método Qualitativo e Quantitativo. São Paulo, 2003. Disponível em:

\_\_\_\_\_. **Relatório de qualidade das águas interiores no estado de São Paulo 2002**. São Paulo, 2003. 279 p. + anexos. (Série Relatórios). Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>>. Acesso em: out. 2012.

\_\_\_\_\_. **Relatório de qualidade das águas interiores no estado de São Paulo 2003**. São Paulo, 2004. 273 p. + anexos. (Série Relatórios). Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>>. Acesso em: out. 2012.

\_\_\_\_\_. **Relatório de qualidade das águas interiores no estado de São Paulo 2004**. São Paulo, 2005. 297 p. + anexos. (Série Relatórios). Disponível em:

<<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>>. Acesso em: out. 2012.

\_\_\_\_\_. **Relatório de qualidade das águas interiores no estado de São Paulo 2005**. São Paulo, 2006. 488 p. + anexos. (Série Relatórios). Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>>. Acesso em: out. 2012.

\_\_\_\_\_. **Relatório de qualidade das águas interiores no estado de São Paulo 2006**. São Paulo, 2007. 327 p. + anexos. (Série Relatórios). Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>>. Acesso em: out. 2012.

\_\_\_\_\_. **Relatório de qualidade das águas interiores no estado de São Paulo 2007**. São Paulo, 2008. 537 p. + anexos. (Série Relatórios). Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>>. Acesso em: out. 2012.

\_\_\_\_\_. **Relatório de qualidade das águas interiores no estado de São Paulo 2008**. São Paulo, 2009. 528 p. + anexos. (Série Relatórios). Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>>. Acesso em: out. 2012.

\_\_\_\_\_. **Relatório de qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo 2009**. São Paulo São Paulo, 2010. 312 p. + anexos. (Série Relatórios). Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>>. Acesso em: out. 2012.

\_\_\_\_\_. **Qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo 2010**. São Paulo, 2011a. 298 p. + anexos. (Série Relatórios). Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>>. Acesso em: out. 2012.

\_\_\_\_\_. **Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos**. São Paulo: CETESB; Brasília: ANA. 2011b. 326 p. Disponível em: <<http://arquivos.ana.gov.br/institucional/sge/CEDOC/Catalogo/2012/Guia NacionalDeColeta.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

\_\_\_\_\_. **Qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo 2011**. São Paulo São Paulo, 2012. 356 p. + anexos. (Série Relatórios). Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>>. Acesso em: out. 2012.

CHESSMAN, B.; WILLIAMS, S.; BESLEY, C. Bioassessment of streams with macroinvertebrates: effect of sampled habitat and taxonomic resolution. **Journal**

of the **North American Benthological Society**, Lawrence, v. 26, n. 3, p. 546-565, sept. 2007.

COELHO-BOTELHO, M.J.C. et al. **Desenvolvimento de índices biológicos para o biomonitoramento em reservatórios do Estado de São Paulo**. São Paulo: CETESB, 2006. 146 p. + anexos. Disponível em:  
<<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>>. Acesso em: out. 2012.

ELLIOTT, J.M. **Some methods for the statistical analysis of samples of benthic invertebrates**. 2<sup>nd</sup> ed. Ambleside, UK: Freshwater Biological Association, 1977. 160 p. (Scientific publication, n. 25).

FLOTEMERSCH, J.E. et al. Development of a standardized large river bioassessment protocol (LR-BP) for macroinvertebrate assemblages. **River Res. Applic.**, Berlin, v. 22, n. 7, p. 775-790, sept. 2006.

GAZOLA-SILVA, F.F.; MELO, S.G.; VITULE, J.R.S. *Macrobrachium rosenbergii* (Decapoda: Palaemonidae): possível introdução em um rio da planície litorânea paranaense (PR, Brasil). **Acta Biol. Par.**, Curitiba, v. 36, n. 1-4, p. 83-90, 2007.

GERRITSEN, J. et al. **Lake and reservoir bioassessment and biocriteria: technical guidance document**. Washington, DC: EPA, 1998. (EPA 841-B-98-007). Disponível em:  
<[GERRITSEN, J. et al. \*\*Development of Lake Condition Indexes \(LCI\) for Florida\*\*. Florida: Department of Environmental Protection, 2000. Disponível em:  
<\[http://www.dep.state.fl.us/water/bioassess/docs/techdox/Florida\\\_LCI.pdf\]\(http://www.dep.state.fl.us/water/bioassess/docs/techdox/Florida\_LCI.pdf\)>. Acesso em: out. 2012.](http://nepis.epa.gov/Exe/ZyNET.exe/20004ODM.txt?ZyActionD=ZyDocument&Client=EPA&Index=1995%20Thru%201999&Docs=&Query=&Time=&EndTime=&SearchMethod=1&TocRestrict=n&Toc=&TocEntry=&QField=&QFieldYear=&QFieldMonth=&QFieldDay=&UseQField=&IntQFieldOp=0&ExtQFieldOp=0&XmlQuery=&File=D%3A%5CZYFILES%5CINDEX%20DATA%5C95THR U99%5CTXT%5C00000012%5C20004ODM.txt&User=ANONYMOUS&Password=anonymous&SortMethod=h%7C-&MaximumDocuments=1&FuzzyDegree=0&ImageQuality=r75g8/r75g8/x150y150g16/i425&Display=p%7Cf&DefSeekPage=x&SearchBack=ZyActionL&Back=ZyActionS&BackDesc=Results%20page&MaximumPages=1&ZyEntry=3>. Acesso em: out. 2012.</p></div><div data-bbox=)

HENRIQUE, R.M. **Avaliação da qualidade ambiental do rio Ribeira de Iguape (SP, Brasil) através do estudo da macrofauna bentônica**. 1998. 99 p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

HENRIQUE-MARCELINO, R. M. et al. **Macrofauna bentônica de água doce: avanços metodológicos**. São Paulo: CETESB, 1992. 16 p.

HUDSON, L.A.; CIBOROWSKI, J.J.H. 1 Teratogenic and genotoxic responses of larval *Chironomus salinarus* group (Diptera: Chironomidae) to contaminated sediment. **Environ. Toxicol. Chem.**, Pensacola, US, v. 15, n. 8, p.1375-1381, aug. 1996a.

\_\_\_\_\_. Spatial and taxonomic variation in incidence of mouthpart deformities in midge larvae (Diptera: Chironomidae: Chironomini). **Can. J. Fish. Aquat. Sci.**, Ottawa, v. 53, n. 2, p. 297-304, feb. 1996b.

IMBIMBO, H.R.V. **Estudo comparativo da eficácia de dois amostradores de comunidade bentônica no diagnóstico da qualidade d água do rio Tietê**. 2001. 89 p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

\_\_\_\_\_. **Avaliação da qualidade ambiental, utilizando invertebrados bentônicos, nos rios Atibaia, Atibainha e Cachoeira, SP**. 2006. 75 p. + anexos. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006. Disponível em:

<<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41134/tde-16082007-111253/pt-br.php>>. Acesso em: out. 2012.

JOHNSCHER, G.L. et al. A comunidade bentônica e a caracterização da qualidade da água de um trecho do rio Atibaia. São Paulo: CETESB, 1979. 31 p. (CETESB, n° 37). Trabalho apresentado ao 10º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Manaus, AM, 1979.

JOHNSCHER-FORNASARO, G.; ZAGATTO, P.A. The use of the benthic community as a water quality indicator in the Cubatão River Basin. **Water Sci. Tech.**, London, UK, v. 19, n. 11, p. 107-112, 1987.

KLEMM, D.J. et al. **Macroinvertebrate field and laboratory methods for evaluating the biological integrity of surface waters**. Cincinnati, US: EPA, 1990. 256 p. (EPA/600/4-90/030). Disponível em: <<http://www.epa.gov/bioiweb1/pdf/EPA-600-4-90-030MacroinvertebrateFieldandLaboratoryMethodsforEvalutingtheBiologicalIntegrityofSurfaceWaters.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

KUHLMANN, M.L. **Invertebrados bentônicos e qualidade ambiental**. 2000. 133 p. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

KUHLMANN, M.L. et al. **Macrofauna bentônica de água doce: avanços metodológicos II**. São Paulo: CETESB, 1993. 18 p.

KUHLMANN, M.L.; HAYASHIDA, C.Y.; ARAÚJO, R.P.A. Using *Chironomus* (Chironomidae: Diptera) mentum deformities in environmental assessment. **Acta Limnol. Bras.**, Rio Claro, v. 12, n. 2, p. 55-61, 2000. Disponível em: <[http://www.ablimno.org.br/acta/pdf/acta\\_limnologica\\_contents1202E\\_files/artigo%205\\_12\(2\).pdf](http://www.ablimno.org.br/acta/pdf/acta_limnologica_contents1202E_files/artigo%205_12(2).pdf)>. Acesso em: out. 2012.

KUHLMANN, M.L.; IMBIMBO, H.R.V.; WATANABE, H.M. **Macrofauna bentônica de água doce: avanços metodológicos III**. São Paulo: CETESB, 2003. 74 p. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>>. Acesso em: out. 2012.

KUHLMANN, M.L.; TRUZZI, A.C.; JOHNSCHER-FORNASARO, G. The benthos community of the Billings Reservoir (São Paulo, Brazil) and its use in environmental quality assessment. **Verh. Internat. Verein Limnol.**, v. 26, p. 2083-87, 1998.

KUHLMANN, M.L. et al. **A fauna bentônica do complexo Billings (SP)**. São Paulo: CETESB, 1997. 108 p. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/tecnologia-ambiental/Laborat%C3%B3rios/110-Publica%C3%A7%C3%B5es%20e%20Relat%C3%B3rios%20-%20Relat%C3%B3rio%20T%C3%A9cnico>>. Acesso em: out. 2012.

KUHLMANN, M.L. et al. Developing a protocol for the use of benthic invertebrates in São Paulo state's reservoirs biomonitoring: habitat, sampling period, mesh size and taxonomic level - I. **Acta Limnol. Bras.**, Rio Claro, v. 17, n. 2, p. 143-153, 2005. Disponível em: <[http://www.ablimno.org.br/acta/pdf/acta\\_limnologica\\_contents1702E\\_files/Acta17\(2\)\\_04.pdf](http://www.ablimno.org.br/acta/pdf/acta_limnologica_contents1702E_files/Acta17(2)_04.pdf)>. Acesso em: out. 2012.

KUHLMANN, M.L.; WATANABE, H.M.; KOBAYASHI, J.T. Estudo da estrutura da comunidade bentônica. In: MOZETO, A.A.; UMBUZEIRO, G.A.; JARDIM, W.F. (Ed.). **Métodos de coleta, análises físico-químicas e ensaios biológicos e ecotoxicológicos de sedimentos de água doce: projeto QUALISED**. São Carlos: Cubo, 2006. Cap. 5, Parte III, p. 182-189.

KUHLMANN, M.L. et al. **Aplicação da tríade na avaliação da qualidade de sedimentos em redes de monitoramento**. São Paulo: CETESB, 2007. 107 p. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>>. Acesso em: out. 2012.

MACHADO, A.B.M.; DRUMMOND, G.M.; PAGLIA, A.P. (Ed.). **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**. Brasília: MMA; Belo

Horizonte: Fundação Biodiversitas, 2008. 2 v. (Biodiversidade, 19). Disponível em:  
<<http://www.mma.gov.br/publicacoes/biodiversidade/category/55-especies-ameacadas-de-extincao>>. Acesso em: out. 2012.

MAGALHÃES, C. et al. Exotic species of freshwater decapod crustaceans in the state of São Paulo, Brazil: records and possible causes of their introduction. **Biodiversity and Conservation**, The Netherlands, v. 14, n. 8, p. 1929-1945, July 2005.

MASON, W.T.; YEVICH, P.P. The use of phloxine B and rose bengal stains to facilitate sorting benthic samples. **Trans. Amer. Microsc. Soc.**, Lawrence, v. 86, n. 2, p. 221-223, 1967.

MAZZINI, F. **Efeitos da resolução taxonômica de invertebrados bentônicos no diagnóstico da qualidade de ecossistemas lóticos**. 2007. 90 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aplicada) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007. Disponível em:  
<<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/91/91131/tde-22102007-111107/pt-br.php>>. Acesso em: out. 2012.

MILBRINK, G.; WIEDERHOLM, T. Sampling efficiency of four types of mud bottom samplers. **Oikos: a journal ecology**, Copenhagen, v. 24, p. 479-482, 1973.

PINTO, P. et al. Seasonal and spatial gradients in the biological and ecological traits of benthic macroinvertebrate communities in Mediterranean rivers in southern Portugal. **Verh. Internat. Verein Limnol.**, v. 30, n. 8, p. 1197-1201, 2009.

PIVA, S.A.E. et al. **Projeto rio Sorocaba: estudos biológicos**. São Paulo: CETESB, 1980. 59 p.

RESH, V.H.; JACKSON, J.K. Rapid assessment approaches to biomonitoring using benthic macroinvertebrates. In: ROSENBERG, D.M.; RESH, V.H. (Ed.) **Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates**. New York: Chapman & Hall, 1993. Chap. 6, p. 195-233.

ROCHA, A.A. **Estudo sobre a fauna bentônica da represa de Americana no Estado de São Paulo (BR)**. 1972. 65 p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1972.

\_\_\_\_\_. **A limnologia, os aspectos ecológicos-sanitários e a macrofauna bentônica da Represa do Guarapiranga na região metropolitana de São Paulo**. 1976. 194 p. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1976.

\_\_\_\_\_. **A ecologia, os aspectos sanitários e de saúde pública da represa Billings na região metropolitana de São Paulo: uma contribuição à sua recuperação.** 1984. 166 p. Tese (Livre Docência) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1984.

ROCHA, O. et al. Animal invaders in São Paulo State reservoirs. **Oecologia Australis**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 3, p. 631-642, set. 2011. Disponível em: <<http://www.oecologiaaustralis.org/ojs/index.php/oa/article/viewFile/oeco.2011.1503.14/540>>. Acesso em: out. 2012

ROSENBERG, D. M.; RESH, V. H. (Ed.) **Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates.** New York: Chapman & Hall, 1993. 504p.

SÃO PAULO. SMA. Resolução nº 65, de 13 de agosto de 1998. Dispõe sobre a criação do Índice de Qualidade de Água para fins de Abastecimento Público (IAP). **Diário Oficial [do] Estado de São Paulo**, Poder Executivo, São Paulo, SP, v. 108, n. 154, 14 ago. 1998.

SÃO PAULO. CONSEMA. Deliberação Normativa 2, de 9 de novembro de 2011. Dispõe sobre a elaboração e a atualização de lista de espécies exóticas com potencial de bioinvasão no Estado de São Paulo e dá outras providências. **Diário Oficial [do] Estado de São Paulo**, Poder Executivo, São Paulo, SP, v. 121, n. 218, 22 nov. 2011. Seção 1, p. 71. Disponível em: <[http://diariooficial.imprensaoficial.com.br/nav\\_v4/index.asp?c=1](http://diariooficial.imprensaoficial.com.br/nav_v4/index.asp?c=1)>. Acesso em: out. 2012

SHIMIZU, G.Y et al. Estudos preliminares para o uso de índices biológicos no biomonitoramento de ambientes aquáticos continentais – riachos e corredeiras da bacia hidrográfica do rio Atibaia. São Paulo: CETESB, 2002. 85 p. + anexos. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>>. Acesso em: out. 2012.

SIMONE, L.R.L. **Land and freshwater mollusks of Brazil.** São Paulo: FAPESP: Bernardi, 2006. 390 p.

SOUZA, R.C.C.L.; CALAZANS, S.H.; SILVA, E.P. Impacto das espécies invasoras no ambiente aquático. **Ciênc. Cult.**, Campinas, v. 61, n.1, p. 35-41, 2009. Disponível em: <<http://cienciaecultura.bvs.br/pdf/cic/v61n1/a14v61n1.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

SURIANE, A.L.; FRANÇA, R.S.; ROCHA, O. A malacofauna bentônica das represas do médio rio Tietê (São Paulo, Brasil) e uma avaliação ecológica das espécies exóticas invasoras, *Melanooides tuberculata* (Müller) e *Corbicula fluminea* (Müller). **Rev. Bras. Zool.**, Curitiba, v. 24, n. 1, p. 21-32, mar. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbzool/v24n1/03.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

TRIVINHO-STRIXINO, S. **Larvas de Chironomidae**: guia de identificação. São Carlos: UFSCar, 2011. 371 p.

USEPA. **Biological criteria for the protection of aquatic life**: standardized biological field sampling and laboratory methods for assessing fish and macroinvertebrate communities. Collumbus, Ohio, 1989. v. 3, sec. 1, 19 p.

Disponível em:

<<http://www.epa.ohio.gov/dsw/bioassess/BioCriteriaProtAqLife.aspx>>.

Acesso em: out. 2012.

WARWICK, W.F. et al. The incidence of deformities in *Chironomus* spp from Port Hope Harbour, Lake Ontario. **J. Great Lakes Res.**, Duluth, US, v. 13, n. 1, p. 88-92, 1987.

WASHINGTON, H.G. Diversity, biotic and similarity indices - a review with special relevance to aquatic ecosystems. **Water Res.**, London, v. 18, n. 6, p. 653-94, 1984.

WATANABE, H.M. **Bases para a aplicação de índices biológicos no biomonitoramento de ambientes lóticos**: comunidade bentônica. 2007. 120 p.

Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007. Disponível em:

<<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41134/tde-20122007-144107/en.php>>. Acesso em: out. 2012



## APÊNDICE A

### Referências para identificação taxonômica de macroinvertebrados aquáticos.

#### INVERTEBRADOS AQUÁTICOS

DOMÍNGUEZ, E.; FERNÁNDEZ, H.R. (Ed.) **Macroinvertebrados bentônicos sudamericanos. Sistemática y biología.** Tucumán, Fundación Miguel Lillo. 2009.

LOPRETTO, E.C.; TELL, G. (Eds) **Ecosistemas d'aguas continentales: metodologias para su estudio.** Tomo II. La Plata, Ed. SUR, 1995. t. 2-3.

MUGNAI, R.; NESSIMIAN, J.L.; BAPTISTA, D.F. **Manual de identificação de macroinvertebrados aquáticos do Estado do Rio de Janeiro.** Rio de Janeiro: Technical Books Ed., 176p. 2009.

PENNAK, R.W. **Fresh-water invertebrates of the United States: Protozoa to Mollusca.** 3<sup>rd</sup> ed. New York, John Wiley & Sons, Inc. 628p. 1989.

PEREZ, G.R. **Guía para el estudio de los macroinvertebrados acuáticos del Departamento de Antioquia.** Bogotá: Presencia, 1988. 217p. Fondo Fen Colombia. Col. Ciências. Universidad de Antioquia.

THORP, J.H.; COVICH, A.P. (Ed.) **Ecology and classification of North American freshwater invertebrates.** San Diego, Academic Press, Inc. 911p. 1991.

#### BRYOZOA

DU BOIS-REYMOND-MARCUS, Eveline; MARCUS, Ernest. Bryozoa. In: SCHADEN, R. (Org.). **Manual de identificação de invertebrados límnicos do Brasil.** Brasília, DF: CNPq, 1984. p. 26.

#### MOLLUSCA

BURCH, J.B. **Freshwater snails (Mollusca: Gastropoda) of North America.** Cincinnati, USEPA, EPA-600/3-82-026. 301p. 2-1982. Disponível em:  
<<http://nepis.epa.gov/Exe/ZyNET.exe/10004R98.txt?ZyActionD=ZyDocument&Client=EPA&Index=1981%20Thru%201985&Docs=&Query=&Time=&EndTime=&SearchMethod=1&TocRestrict=n&Toc=&TocEntry=&QField=pubnumber%5E%22600382026%22&QFieldYear=&QFieldMonth=&QFieldDay=&UseQField=pubnumber&IntQFieldOp=1&ExtQFieldOp=1&XmlQuery=&File=D%3A%5CZYFILES%5CINDEX%20DATA%5C81THRU85%5CTXT%5C00000000%5C10004R98.txt&User=ANONYMOUS&Password=anonymous&SortMethod=h%7C->

[&MaximumDocuments=10&FuzzyDegree=0&ImageQuality=r75g8/r75g8/x150y150g16/i425&Display=p%7Cf&DefSeekPage=x&SearchBack=ZyActionL&Back=ZyActionS&BackDesc=Results%20page&MaximumPages=1&ZyEntry=1>](#).

Acesso em: out. 2012.

HEARD, W.H. **Identification manual of the freshwater clams of Florida.**

Tallahassee, Florida Department of Environmental Protection. 87p. 1979.

Disponível em:

<<http://publicfiles.dep.state.fl.us/dear/labs/biology/biokeys/clams.pdf>>.

Acesso em: out. 2012.

MANSUR, M.C.D.; SCHULZ, C.; GARCES, L.M.M.P. Moluscos bivalves de água doce: identificação dos gêneros do sul e leste do Brasil. **Acta Biologica Leopoldensia**, v.9, n.2, p. 181-202, 1987.

MANSUR, M.C.D.; PEREIRA, D. Bivalves límnicos da bacia do rio dos Sinos, Rio Grande do Sul, Brasil (Bivalvia, Unionoidea, Veberoidea e Mytiloidea). **Rev. Bras. Zool.**, v. 23, n. 4, p. 1123-1147. 2006.

MARTINS, C.M. **Chave para identificação de moluscos dulcícolas.** São Paulo, 2003. São Paulo: CETESB, 14p. + Figs. (apostila de curso interno)

PIMPÃO, D.M.; MANSUR, M.C.D. Chave pictórica para identificação dos bivalves do baixo Rio Aripuanã, Amazonas, Brasil (Sphaeriidae, Hyriidae e Mycetopodidae). São Paulo, **Biota Neotropica**, vol.9, n. 3, 2009. Disponível em: <<http://www.biotaneotropica.org.br/v9n3/pt/fullpaper?bn00609032009+pt>>.

Acesso em: out. 2012.

SIMONE, L.R.L. **Land and freshwater mollusks of Brazil.** São Paulo, EGB-FAPESP. 390p. 2006.

THOMPSON, F.G. **An identification manual for the freshwater snails of Florida.** Disponível em: <<http://www.Flmnh.ufl.edu/malacology/fl-snail/snail1.htm>>. Acesso em: out. 2012.

## OLIGOCHAETA

BRINKHURST, R.O.; MARCHESE, M.R. **Guia para la identificacion de oligoquetos acuaticos continentales de sud y centroamerica.** 2ª ed. Santo Tomé, Colección CLIMAX nº 6. 207p. 1992.

MILLIGAN, M.R. **Identification manual for the aquatic Oligochaeta of Florida. Vol. I. Freshwater oligochaetes.** Tallahassee, Department of Environmental Protection. 187p. 1997. Disponível em:

<<http://publicfiles.dep.state.fl.us/dear/labs/biology/biokeys/oligofw.pdf>>.

Acesso em: out. 2012.

PINDER, A.M.; BRINKHURST, R.O. **A preliminary guide to the identification of the microdrile Oligochaeta of Australian inland waters.** Albury, Cooperative Research Centre for Freshwater Ecology, 137. 1994. Disponível em: <[http://www.mdfrc.org.au/bugguide/resources/1-1994-Pinder-Brinkhurst-Guide\\_to\\_Oligochaeta.pdf](http://www.mdfrc.org.au/bugguide/resources/1-1994-Pinder-Brinkhurst-Guide_to_Oligochaeta.pdf)>. Acesso em: out. 2012.

RIGHI, G. **Oligochaeta.** In: SCHADEN, R. (Org.) Manual de identificação de invertebrados límnicos do Brasil. Brasília, CNPq/Coordenação editorial, 48p. 1984.

#### HIRUDINEA

CHRISTOFFERSEN, M.L. A catalogue of *Helobdella* (Annelida, Clitellata, Hirudínea, Glossiphoniidae), with a summary of leech diversity, from South America. **Neotropical Biology and Conservation**, 4(2): 89-98, 2009. Disponível em: <[http://www.unisinos.br/publicacoes\\_cientificas/images/stories/pdfs\\_neotropical/v4n2/christoffersen.pdf](http://www.unisinos.br/publicacoes_cientificas/images/stories/pdfs_neotropical/v4n2/christoffersen.pdf)>. Acesso em: out. 2012.

CHRISTOFFERSEN, M.L. Clitellate evolution and leech diversity: Glossiphoniidae excl. *Helobdella* (Annelida: Hirudinea: Rhynchobdellida) from South America. **Gaia Scientia**, João Pessoa, PB, v. 1, n. 2, p. 131-140, 2007. Disponível em: <http://periodicos.ufpb.br/ojs2/index.php/gaia/article/view/2269/1995>>. Acesso em: out. 2012.

#### ARTHROPODA

FERNÁNDEZ, H.R.; DOMÍNGUEZ, E. (Eds) **Guía para la determinación de los artrópodos bentónicos sudamericanos.** Tucumán, EUdeT. 282p. 2001.

#### CRUSTACEA

BARROS, M.P.; BRUSTULIN, J.; CORTE, R.B.D. *Heterias* (Fritziánira) *exul* (Muller, 1892) (Janiridae, Isopoda, Crustacea), novo registro para as águas continentais do Rio Grande do Sul, Brasil. Porto Alegre: **Biociências** (revista eletrônica), v. 15, n. 2, p. 269-270, 2007. Disponível em: <http://revistaseletronicas.pucrs.br/fabio/ojs/index.php/fabio/article/viewFile/161/3006>>. Acesso em: out. 2012.

BRASIL-LIMA, I.M. & BARROS, C.M.L., 1998. Malacostraca - Peracarida. Freshwater Isopoda. Flabellifera and Asellota. In: YOUNG, P.S. (ed.). **Catalogue of Crustacea of Brazil.** Rio de Janeiro: Museu Nacional. p. 645-651. (Série Livros n. 6).

MELO, G.A.S. (Ed.) **Manual de identificação dos Crustacea Decapoda de água doce do Brasil**. São Paulo. Ed. Loyola/Centro Univ. São Camilo/Museu de Zoologia-USP. 430p. 2003.

#### INSECTA

BORROR, D.J.; DELONG, D.M. **Estudo dos insetos**. São Paulo, Ed. Edgard Blücher Ltda. 653p. 1969.

COSTA, C.; IDE, S.; SIMONKA, C.E. (Eds) **Insetos imaturos - metamorfose e identificação**. Ribeirão Preto, Ed. Holos, 249p. 2006.

FROEHLICH, C.G. (org.). 2007. **Guia on-line: Identificação de larvas de Insetos Aquáticos do Estado de São Paulo**. [São Paulo: s.n.], 2007. Disponível em: <<http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/botoes.htm>>. Acesso em: out. 2012.

MERRITT, R.W.; CUMMINS, K.W.; BERG, M.B. (Eds) **An introduction to the aquatic insects of North America**. 4<sup>th</sup> ed. Dubuque, Kendall/Hunt Publ. Co. 1158p. 2008.

#### COLEOPTERA

BENETTI, C.J.; CUETO, J.A.R.; FIORENTIN, G.L. Gêneros de Hydradephaga (Coleóptera: Dytiscidae, Gyrinidae, Haliplidae, Noteridae) citados para o Brasil, com chaves para identificação. São Paulo, **Biota Neotropica**, v. 3, n. 1, 2003. Disponível em:

<[http://www.biotaneotropica.org.br/v3n1/pt/fullpaper?bn00803012003\\_1+pt](http://www.biotaneotropica.org.br/v3n1/pt/fullpaper?bn00803012003_1+pt)>;

<[http://www.biotaneotropica.org.br/v3n1/pt/fullpaper?bn00803012003\\_2+pt](http://www.biotaneotropica.org.br/v3n1/pt/fullpaper?bn00803012003_2+pt)>;

<[http://www.biotaneotropica.org.br/v3n1/pt/fullpaper?bn00803012003\\_3+pt](http://www.biotaneotropica.org.br/v3n1/pt/fullpaper?bn00803012003_3+pt)>. Acesso em: out. 2012.

BENETTI, C.J. et al. Chaves de identificação para famílias de coleópteros aquáticos ocorrentes no Rio Grande do Sul, Brasil. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 1, n. 1, p. 24-28, 2006. Disponível em: <[http://www.unisinos.br/publicacoes\\_cientificas/images/stories/Publicacoes/neotropicalv1n1/art04\\_neiss\\_neotropical.pdf](http://www.unisinos.br/publicacoes_cientificas/images/stories/Publicacoes/neotropicalv1n1/art04_neiss_neotropical.pdf)>. Acesso em: out. 2012.

BOUCHARD, R.W., Jr. Coleoptera (aquatic Beetles). In: BOUCHARD, R.W., Jr. **Guide to aquatic invertebrates of the Upper Midwest**. Water Resources Center, University of Minnesota, St Paul, MN., Chapter 12, p. 141-158, 2004. Disponível em:

<<http://www.dep.wv.gov/wwe/getinvolved/sos/documents/benthic/umw/coleoptera.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

EPLER, J.H. **Identification manual for the water beetle of Florida**. Tallahassee, Florida Dept. Environ. Protection. 1996. Disponível em:  
<<http://publicfiles.dep.state.fl.us/dear/labs/biology/biokeys/beetles96.pdf>>.  
Acesso em: out. 2012.

EPLER, J.H. **The water beetles of Florida - an identification manual for the families Chrysomelidae, Curculionidae, Dryopidae, Dytiscidae, Elmidae, Gyrinidae, Haliplidae, Helophoridae, Hydraenidae, Hydrochidae, Hydrophilidae, Noteridae, Psephenidae, Ptilodactylidae and Scirtidae**. Tallahassee, Florida Dept. Environ. Protection. 2010. Disponível em:  
<<http://publicfiles.dep.state.fl.us/dear/labs/biology/biokeys/beetles10.pdf>>.  
Acesso em: out. 2012.

FERREIRA, Jr, N.; NICOLINI, L.B.; NESSIMIAN, J.L. Description of the third instar larva of *Megadytes latus* (Fabricius) (Coleoptera, Dytiscidae), with an identification key for described larvae of the genus. **Rev. Bras. Zool.**, v. 23, n.3, p. 792-795, 2006. Disponível em:  
<<http://www.scielo.br/pdf/rbzool/v23n3/a25v23n3.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

PASSOS, M.I.S.; NESSIMIAN, J.L.; FERREIRA, Jr, N. Chaves para identificação dos gêneros de Elmidae (Coleoptera) ocorrentes no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Rev. Bras. Entomol.**, v. 51, n. 1, p. 42-53, 2007. Disponível em:  
<<http://www.scielo.br/pdf/rbent/v51n1/08.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

SEGURA, M.O.; VALENTE-NETO, F.; FONSECA-GESSNER, A.A. Chave de famílias de Coleoptera aquáticos (Insecta) do Estado de São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 1, p. 393-412, 2011. Disponível em:  
<<http://www.biotaneotropica.org.br/v11n1/pt/fullpaper?bn02711012011+pt>>  
. Acesso em: out. 2012.

SEGURA, M.O.; VALENTE-NETO, F.; FONSECA-GESSNER, A.A. Elmidae (Coleoptera, Byrrhoidea) larvae in the state of São Paulo, Brazil: Identification key, new records and distribution. **ZooKeys**, v. 151, p. 53-74, 2011. Disponível em:  
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3286224/pdf/ZooKeys-151-053.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

SEGURA, M.O.; VALENTE-NETO, F.; FONSECA-GESSNER, A.A. Checklist of the Elmidae (Coleoptera: Byrrhoidea) of Brazil. **Zootaxa**, v. 3260, p. 1-18, 2012. Disponível em:  
<<http://www.mapress.com/zootaxa/2012/1/zt03260p018.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

## DIPTERA

EPLER, J.H. **Identification manual for the larval Chironomidae (Diptera) of Florida**. Tallahassee, Florida Dept. Environ. Protection. 1995. Disponível em: <<http://publicfiles.dep.state.fl.us/dear/labs/biology/biokeys/midges.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

EPLER, J.H. **Identification manual for the larval Chironomidae (Diptera) of North and South Carolina**. EPA Region 4. 2001. Disponível em: <<http://www.sjrwmd.com/technicalreports/pdfs/SP/SJ2001-SP13.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

MENDES, H.F.; PINHO, L.C. Chironomidae: situação taxonômica atual. In: FROEHLICH, C. G. (Coord.). **Levantamento e biologia de Insecta e Oligochaeta aquáticos de sistemas lóticos do Estado de São Paulo**. São Paulo, 2006. Disponível em: <<http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/chironomidae/chiroindex.htm>>. Acesso em: out. 2012.

PEPINELLI, M. Checklist de Simuliidae (Insecta, Diptera) do Estado de São Paulo, Brasil. **Biota Neotrop.**, v. 11, n. 1a, 2011. Disponível em: <<http://www.biotaneotropica.org.br/v11n1a/pt/fullpaper?bn0341101a2011+pt>>. Acesso em: out. 2012.

PFEIFFER, J. et al. **Taxonomic Aids for Mid-Atlantic Benthic Macroinvertebrates. Ephemeroptera: Baetidae; Plecoptera: Capniidae/Leuctridae; Diptera: Simuliidae**. Washington: USEPA, 2008. EPA-260-R-08-014. Disponível em: <<http://www.epa.gov/bioiweb1/pdf/EPA-260-R-08-014TaxonomicAidsforMid-AtlanticBenthicMacroinvertebrates.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

PINHO, L.C. Diptera. In: FROEHLICH, C.G. (Org.) **Guia on-line de identificação de larvas de insetos aquáticos do Estado de São Paulo**. [São Paulo: s.n.], 2008. Disponível em: <[http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/Guia\\_online/Guia\\_Diptera.pdf](http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/Guia_online/Guia_Diptera.pdf)>. Acesso em: out. 2012.

SHELLEY, A.J. et al. (Ed.) **The blackflies of Brazil (Diptera, Simuliidae)**. Sofia, Bulgaria: Pensoft, 2010. 821 p. (Aquatic Biodiversity in Latin America Series, v. 6).

TRIVINHO-STRIXINO, S. **Larvas de Chironomidae**. Guia de identificação. São Carlos, Departamento de Hidrobiologia/Laboratório de Entomologia Aquática/UFSCar. 371p. 2011.

TRIVINHO-STRIXINO, S. Chironomidae (Insecta, Díptera, Nematocera) do Estado de São Paulo, Sudeste do Brasil. **Biota Neotrop.**, v. 11, n. 1a, 2011.

Disponível em:

<<http://www.biotaneotropica.org.br/v11n1a/pt/fullpaper?bn0351101a2011+pt>>. Acesso em: out. 2012.

TRIVINHO-STRIXINO, S.; STRIXINO, G. **Larvas de Chironomidae do Estado de São Paulo**: Guia de identificação e diagnose dos gêneros. São Carlos, UFSCar/PPG - Ecologia e Recursos Naturais. 229p. 1995.

TRIVINHO-STRIXINO, S.; STRIXINO, G. A new neotropical species of *Tanytarsus* van der Wulp, 1874 (Diptera: Chironomidae), with an unusual anal process. **Zootaxa**, n. 1654, p. 61-67, 2007. Disponível em:

<<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.193.990&rep=rep1&type=pdf>>. Acesso em: out. 2012.

#### EPHEMEROPTERA

CHACÓN, M.M.; SEGNINI, S. Reconocimiento taxonomico de las nayades del orden Ephemeroptera en la deriva de dos rios de alta montana en el Estado Merida, Venezuela. **Bol. Entomol. Venez. N.S.**, v. 11, n. 2, p. 103-122, 1996.

DA-SILVA, E.R. Variações interespecíficas da ninfa de *Askola froehlichii* Peters, 1969 (Insecta, Ephemeroptera, Leptophlebiidae), com notas biológicas. Rio de Janeiro, **Boletim do Museu Nacional**, Zoologia, no. 492, p. 1-5, 2002a.

Disponível em:

<<http://www.insecta.ufv.br/Entomologia/cien/sistemica/ephemeroptera/ephemBrasil/pdfs/DaSilva2002a.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

DA-SILVA, E.R. Descrição da ninfa de *Farrodes carioca* Dominguez, Molinari & Peters, 1996 (Insecta, Ephemeroptera, Leptophlebiidae). Rio de Janeiro, **Boletim do Museu Nacional**, Zoologia, no. 495, p. 1-5, 2002b. Disponível em:

<<http://www.insecta.ufv.br/Entomologia/cien/sistemica/ephemeroptera/ephemBrasil/pdfs/DaSilva2002b.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

DA-SILVA, E.R.; PEREIRA, S.M. Description of the nymph of *Ulmeritus* (U.) *saopaulensis* (Traver, 1946) from southeastern Brazil (Ephemeroptera, Leptophlebiidae, Atalophlebiinae). **Revta bras. Entomol.**, v. 36, n. 4, p. 855-858, 1992. Disponível em:

<<http://www.insecta.ufv.br/Entomologia/cien/sistemica/ephemeroptera/ephemBrasil/pdfs/DaSilvaPereira1992.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

DA-SILVA, E.R. et al. A identificação das famílias de Ephemeroptera (Insecta) ocorrentes no Estado do Rio de Janeiro: Chave pictórica para as ninfas. Rio de Janeiro, **Boletim do Museu Nacional**, Zoologia, no. 508, p. 1-6, 2003. Disponível em:

<<http://www.publicacao.museunacional.ufrj.br/Boletim/Zoologia/Zool2003/Zool508.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

DA-SILVA, E.R.; SALLES, F.F.; BAPTISTA, M.S. As brânquias dos gêneros de Leptophlebiidae (Insecta: Ephemeroptera) ocorrentes no Estado do Rio de Janeiro. São Paulo, **Biota Neotropica**, v. 2, n. 2, 2002. Disponível em: <<http://www.biotaneotropica.org.br/v2n2/pt/fullpaper?bn00902022002+pt>>. Acesso em: out. 2012.

DIAS, L.G. et al. Key to the genera of Ephemerelloidea (Insecta: Ephemeroptera) from Brazil. São Paulo, **Biota Neotropica**, v. 6, n. 1, 2006. Disponível em: <<http://www.biotaneotropica.org.br/v6n1/pt/fullpaper?bn00806012006+en>>. Acesso em: out. 2012.

DIAS, L.G.; MOLINERI, C.; FERREIRA, P.S.F. Ephemerelloidea (Insecta: Ephemeroptera) do Brasil. **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 47, n. 19, p. 213-244, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/paz/v47n19/01.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

DOMÍNGUEZ, E. et al. **Ephemeroptera of South América**. Sofia, Bulgaria: Pensoft, 2006. 646 p. (Aquatic Biodiversity in Latin America Series, v. 2).

GONZÁLES-LAZO, D.D.; NARANJO L, C. Clave de identificación para larvas del orden Ephemeroptera presentes en Cuba. **Rev. Soc. Entomol. Argent.**, v. 66, n. 1-2, p. 137-145, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.org.ar/pdf/rsea/v66n1-2/v66n1-2a07.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

LOPES, M.J.N.; FROEHLICH, C.G.; DOMINGUEZ, E. Description of the larvae of *Thraulodes Schlinger* (Ephemeroptera: Leptophlebiidae). **Ilheringia**, Sér. Zool., v. 93, n. 2, p. 197-200, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/isz/v93n2/a11v93n2.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

MARIANO, R.; POLEGATTO, C. Checklist de Ephemeroptera do Estado de São Paulo, Brasil. **Biota Neotrop.**, v. 11, n. 1a, 2011. Disponível em: <<http://www.biotaneotropica.org.br/v11n1a/pt/fullpaper?bn0281101a2011+pt>>. Acesso em: out. 2012.

MOLINERI, C. Cladistic analysis of the South American species of *Tricorythodes* (Ephemeroptera: Leptohyphidae) with the description of new species and stages. **Aquatic insects**, v. 24, n. 4, p. 273-308, 2002. Disponível em: <[http://www.famu.org/mayfly/pubs/pub\\_m/pubmolineric2002p273.pdf](http://www.famu.org/mayfly/pubs/pub_m/pubmolineric2002p273.pdf)>. Acesso em: out. 2012.

MOLINERI, C.; MALZACHER, P. South American *Caenis* Stephens (Ephemeroptera, Caenidae), new species and stage descriptions. **Zootaxa**, 1660,

p. 1-31, 2007. Disponível em:  
<<http://www.mapress.com/zootaxa/2007/zt01660p031.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

PEREIRA, S.M.; da SILVA, E. R. Nova espécie de *Campylocia* Needham & Murphy, 1924 com notas biológicas (Ephemeroptera, Euthyplocidae). **Bol. Museu Nacional RJ**, n. 336, 1990. Disponível em:  
<[http://www.famu.org/mayfly/pubs/pub\\_p/pubpereiras1990p1.pdf](http://www.famu.org/mayfly/pubs/pub_p/pubpereiras1990p1.pdf)>. Acesso em: out. 2012.

PESCADOR, M.L.; RICHARD, B.A. **Guide to the mayfly (Ephemeroptera) nymphs of Florida**. Tallahassee, Florida Department of Environmental Protection. 173p. 2004. Disponível em:  
<[http://www.famu.org/mayfly/pubs/pub\\_p/pubpescadorm2004p1.pdf](http://www.famu.org/mayfly/pubs/pub_p/pubpescadorm2004p1.pdf)>. Acesso em: out. 2012.

PFEIFFER, J. et al. **Taxonomic Aids for Mid-Atlantic Benthic Macroinvertebrates. Ephemeroptera: Baetidae; Plecoptera: Capniidae/Leuctridae; Diptera: Simuliidae**. Washington: USEPA, 2008. EPA-260-R-08-014. Disponível em: <<http://www.epa.gov/bioiweb1/pdf/EPA-260-R-08-014TaxonomicAidsforMid-AtlanticBenthicMacroinvertebrates.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

RODRÍGUEZ, E.; HUBBARD, M.D.; PETERS, W.L. **Clave para ninfas y adultos de las familias y géneros de Ephemeroptera (Insecta) sudamericanos**. La Plata, UNLP/CONICET, Biología Acuática no. 16, 1992.

SALLES, F.F. et al. As espécies de Ephemeroptera (Insecta) registradas para o Brasil. São Paulo, **Biota Neotropica**, v. 4, n. 2, 2004. Disponível em: <<http://www.biotaneotropica.org.br/v4n2/pt/fullpaper?bn04004022004+pt>> Acesso em: out/2012.

SALLES, F.F. et al. Baetidae (Ephemeroptera) na região sudeste do Brasil: novos registros e chave para gêneros no estágio ninfal. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 5, p. 725-735, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/ne/v33n6/23344.pdf>>. Acesso em: out/2012.

SALLES, F.F.; LUGO-ORTIZ, C.R. Nova espécie de *Cloeodes* Traver (Ephemeroptera: Baetidae) do Estado do Rio de Janeiro. **Neotrop. Entomol.**, v. 32, n. 3, p. 449-452, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/ne/v32n3/18759.pdf>>. Acesso em: out/2012.

SALLES, F.F.; LUGO-ORTIZ, C.R. Um novo gênero e espécie de Baetidae (Ephemeroptera) do Estado de Minas Gerais, sudeste do Brasil. **Ilheringia**, Sér. Zool., v. 93, n. 2, p. 201-206, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/isz/v93n2/a12v93n2.pdf>> Acesso em: out/2012.

SILVA, R.M.L. Ephemeroptera: ordem Ephemeroptera (Arthropoda: Insecta). In: FROEHLICH, C.G. (Org.). **Guia on-line: identificação de larvas de insetos aquáticos do Estado de São Paulo**. [São Paulo: s.n.], 2007. Disponível em: <[http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/Guia\\_online/guia\\_Ephemeroptera.pdf](http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/Guia_online/guia_Ephemeroptera.pdf)>. Acesso em: out. 2012.

#### HEMIPTERA

EPLER, J.H. **Identification manual of the aquatic and semi-aquatic Heteroptera of Florida**. Tallahassee, Florida Department of Environmental Protection, 195p. 2006. Disponível em: <<http://publicfiles.dep.state.fl.us/dear/labs/biology/biokeys/heteroptera.pdf>> Acesso em: out/2012.

NIESER, N.; MELO, A.L. **Os heterópteros aquáticos de Minas Gerais**. Guia Introdotório com chave de Identificação para as espécies de Nepomorpha e Gerromorpha. Belo Horizonte, Ed. UFMG. 177p. 1997.

#### MEGALOPTERA

AZEVEDO, C.A.S.; HAMADA, Megaloptera: ordem Megaloptera Latreille, 1802 (Arthropoda: Insecta). In: FROEHLICH, C.G. (Org.). **Guia on-line: identificação de larvas de insetos aquáticos do Estado de São Paulo**. [São Paulo: s.n.], 2008. Disponível em: <[http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/Guia\\_online/Capitulo\\_6\\_Megaloptera.pdf](http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/Guia_online/Capitulo_6_Megaloptera.pdf)> Acesso em: out. 2012.

CONTRERAS-RAMOS, A. Recent account on the systematics and biogeography of Neotropical Megaloptera (Corydalidae, Sialidae). **Ann. Mus. Civ. St. Nat. Ferrara**, n. 8, p. 67-72, 2007.

#### ODONATA

CARVALHO, A.L.; CALIL, E.R. Chave de identificação para as famílias de Odonata (Insecta) ocorrentes no Brasil, adultos e larvas. São Paulo, **Papéis Avulsos de Zool.**, 41(15): 223-241. 2000.

COSTA, J.M.; MACHADO, A.B.M.; LENCIONI, F.A.A.; SANTOS, T.C. Diversidade e distribuição dos Odonata (Insecta) no Estado de São Paulo, Brasil: Parte I – Lista de espécies e registros bibliográficos. Rio de Janeiro, **Publ. Avul. Mus. Nac.**, n. 80, p. 1-27, 2000. Disponível em: <<http://www.angelfire.com/mn/janira/trabalhos/pa80.pdf>> Acesso em: out/2012.

RICHARDSON, J.S. **Identification manual for the damselfly nymphs (Zygoptera) of Florida.** Tallahassee, Florida Department of Environmental Protection. 62p. 2010. Disponível em: <<http://publicfiles.dep.state.fl.us/dear/labs/biology/biokeys/zygoptera.pdf>>. Acesso em: out/2012.

RICHARDSON, J.S. **Identification manual for the dragonfly larvae (Anisoptera) of Florida.** Tallahassee, Florida Department of Environmental Protection. 122p. 2003. Disponível em: <<http://publicfiles.dep.state.fl.us/dear/labs/biology/biokeys/dragonflykey.pdf>>. Acesso em: out/2012.

SOUZA, L.O.I.; COSTA, J.M.; OLDRINI, B.B. Odonata: ordem Odonata Fabricius, 1793 (Arthropoda:Insecta). In: FROEHLICH, C.G. (Org.). **Guia on-line: identificação de larvas de insetos aquáticos do Estado de São Paulo.** [São Paulo: s.n.], 2008. Disponível em: <[http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/Guia\\_online/Guia\\_online\\_Odonata\\_Vers%C3%A3o\\_1%C3%9F2.0.pdf](http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/Guia_online/Guia_online_Odonata_Vers%C3%A3o_1%C3%9F2.0.pdf)>. Acesso em: out. 2012.

#### PLECOPTERA

FROEHLICH, C.G. Brazilian Plecoptera 4. Nymphs of perlid genera from southeastern Brazil. **Annls Limnol.**, v. 20, n. 1-2, p. 43-48, 1984.

FROEHLICH, C.G. Checklist dos Plecoptera (Insecta) do Estado de São Paulo, Brasil. **Biota Neotrop.**, v. 11, n. 1a, 2011. Disponível em: <<http://www.biotaneotropica.org.br/v11n1a/pt/fullpaper?bn0291101a2011+pt>>. Acesso em: out/2012.

HAMADA, N.; COUCEIRO, S.R.M. An illustrated key to nymphs of Perlidae (Insecta, Plecoptera) genera in Central Amazonia, Brazil. **Rev. Bras. Entomol.**, v. 47, n. 3, p. 477-480, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbent/v47n3/18916.pdf>>. Acesso em: out. 2012.

LECCI, L.S.; FROEHLICH, C.G. Plecoptera. In: FROEHLICH, C.G. (Org.) **Guia on-line de identificação de larvas de insetos aquáticos do Estado de São Paulo.** [São Paulo: s.n.], 2007. Disponível em: <[http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/Guia\\_online/Guia\\_identifica%C3%A7%C3%A3o\\_larvas\\_Plecoptera.pdf](http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/Guia_online/Guia_identifica%C3%A7%C3%A3o_larvas_Plecoptera.pdf)>. Acesso em: out/2012.

OLIFIERS, M.H. et al. A key to brazilian genera of Plecoptera (Insecta) based on nymphs. **Zootaxa**, 651, p. 1-15, 2004. Disponível em: <<http://www.mapress.com/zootaxa/2004/zt00651.pdf>>. Acesso em: out/2012.

STARK, B.P.; FROEHLICH, C.G.; ZÚÑIGA, M.C. **South American Stoneflies (Plecoptera)**. Sofia, Bulgaria: Pensoft, 2009. 154 p. (Aquatic Biodiversity in Latin America Series, v. 5).

### TRICHOPTERA

BLAHNIK, R.J.; PAPROCKI, H.; HOLZENTHAL, R.W. New distribution and species records of Trichoptera from southern and southeastern Brazil. São Paulo, **Biota Neotropica**, v. 4, n. 1, 2004. Disponível em: <<http://www.biotaneotropica.org.br/v4n1/en/fullpaper?bn01304012004+en>>. Acesso em: out/2012.

CALOR, A.R. Trichoptera. In: FROEHLICH, C.G. (Org.) **Guia on-line** de identificação de larvas de insetos aquáticos do Estado de São Paulo. [São Paulo: s.n.], 2007. Disponível em: <[http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/Guia\\_online/Guia\\_Trichoptera\\_b.pdf](http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/Guia_online/Guia_Trichoptera_b.pdf)>. Acesso em: out/2012.

CALOR, A.R. Checklist dos Trichoptera (Insecta) do Estado de São Paulo, Brasil. **Biota Neotrop.**, v. 11, n. 1a, 2011. Disponível em: <<http://www.biotaneotropica.org.br/v11n1a/pt/fullpaper?bn0311101a2011+pt>>. Acesso em: out/2012.

CALOR, A.R.; FROEHLICH, C.G. Description of the immature stages of *Notalina morsei* Holzenthal, 1986 (Trichoptera: Leptoceridae) and an updated key to larvae of neotropical Leptocerida genera. **Zootaxa**, 1779, p. 45-54, 2008. Disponível em: <<http://www.mapress.com/zootaxa/2008/f/z01779p054f.pdf>>. Acesso em: out/2012.

DUMAS, L.L.; NESSIMIAN, J.L. Description of the immature stages of *Anastomoneura guahybae* Humantico & Nessimian, 2004 (Trichoptera: Odontoceridae), with a new record for the genus and keys to larvae and pupae of Neotropical genera. **Zootaxa**, 1362, p. 43-53, 2006. Disponível em: <<http://www.mapress.com/zootaxa/2006f/z01362p053f.pdf>>. Acesso em: out/2012.

HOLZENTHAL, R.W. et al. Order Trichoptera Kirby, 1813 (Insecta), Caddisflies. **Zootaxa**, v.1668, p. 639-698. 2007. Disponível em: <<http://bioguid.info/files/1175-5326/pdf/zt01668p698.pdf>>. Acesso em: out/2012.

MORSE, J.C. Trichoptera ("Caddisflies"). In: RESH, V.H.; CARDÉ, R.T. (eds) **Encyclopedia of Insects**. P. 1145-1151, 2003.

PAPROCKI, H.; HOLZENTHAL, R.W.; BLAHNIK, R.J. Checklist of the Trichoptera (Insecta) of Brazil I. São Paulo, **Biota Neotropica**, v. 4, n. 1, 2004. Disponível em: <<http://www.biotaneotropica.org.br/v4n1/es/fullpaper?bn01204012004+en>>. Acesso em: out/2012.

PES, A.M.O.; HAMADA, N.; NESSIMIAN, J.L. Chaves de identificação de larvas para famílias e gêneros de Trichoptera (Insecta) da Amazônia Central, Brasil. **Rev. Bras. Entomol.**, v. 49, n. 2, p. 181-204, 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbent/v49n2/a02v49n2.pdf>>. Acesso em: out/2012.

PESCADOR, M.L.; RASMUSSEN, A.K.; HARRIS, S.C. **Identification manual for the caddisfly (Trichoptera) larvae of Florida**. Tallahassee, Department of Environmental Protection. 132p. 1995. Disponível em: <<http://famu.org/trichoptera/pubs/manual.pdf>>. Acesso em: out/2012.

POSADA-GARCÍA, J.A.; ROLDÁN-PÉREZ, G. Clave ilustrada y diversidad de las larvas de Trichoptera em el nor-occidente de Colômbia. **Caldasia**, v. 25, n. 1, p. 169-192, 2003.

WIGGINS, G.B. **Larvae of the North American caddisfly genera (Trichoptera)**. 2<sup>nd</sup> ed. Toronto, Univ. Toronto Press Incorp. 457p. 1996.



## APÊNDICE B

### **Lista de *sites* com informações úteis sobre macroinvertebrados aquáticos.**

- ✓ Bureau of Laboratories List of Keys and Guides – Florida Department of Environmental Protection: <http://www.dep.state.fl.us/labs/cgi-bin/sbio/keys.asp> (chaves de identificação para vários grupos, desenvolvidas para o Estado da Flórida)
- ✓ California Digital Reference Collection – Department of Fish and Game: [http://www.dfg.ca.gov/ABL/Lab/CA\\_digital\\_ref\\_Psephenidae.asp](http://www.dfg.ca.gov/ABL/Lab/CA_digital_ref_Psephenidae.asp) (guia ilustrado de identificação de grupos bentônicos)
- ✓ Chaves Taxonômicas – Biota/FAPESP: <http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/botoes.htm> (chaves de identificação de algumas ordens bentônicas desenvolvidas no projeto Biota-Fapesp para o Estado de São Paulo)
- ✓ Chironomid Research Group – University of Minnessota: <http://www.entomology.umn.edu/midge/> (biologia de Chironomidae e guia ilustrado para organismos bentônicos)
- ✓ Chironomidae and Water Beetles of Florida web site: <http://home.comcast.net/~johnepler3/index.html> (informações, download de chaves de identificação)
- ✓ Digital Key for Aquatic Insects of North Dakota: <http://www.waterbugkey.vcsu.edu/> (chave ilustrada para identificação de grupos bentônicos)
- ✓ Diptera: Chironomidae. <http://sites.ffclrp.usp.br/aguadoce/chironomidae/chiroindex.htm> (listagem de ocorrência das espécies brasileiras de Chironomidae)
- ✓ Discover Life Plecoptera: <http://www.discoverlife.org/20/q?search=Plecoptera> (informações, links, imagens)

- ✓ Discover Life Trichoptera: <http://www.discoverlife.org/20/q?search=Trichoptera> (informações, links, imagens)
- ✓ Dr Bill Stark's Page: <http://www.mc.edu/campus/users/stark/> (atualizações e links para Plecoptera)
- ✓ Entomologistas do Brasil: <http://www.ebras.bio.br/dives/index.asp> (informações, download gratuito de artigos)
- ✓ Ephemeroptera do Brasil: <http://sites.google.com/site/ephemeropterabr/> (lista das espécies brasileiras, download gratuito de artigos, imagens)
- ✓ Ephemeroptera Galactica: <http://www.famu.org/mayfly/> (informações, catálogos, download gratuito de artigos)
- ✓ Freshwater Benthic Ecology and Aquatic Entomology Homepage: <http://www.chebucto.ns.ca/ccn/info/Science/SWCS/ZOOBENTH/BE NTHOS/benthos.html> (informações, valores de tolerância, download)
- ✓ Gordon's Trichoptera Page: <http://www.earthlife.net/insects/trichopt.html> (informações, lista e sites)
- ✓ Identification and Ecology of Australian Freshwater Invertebrates: <http://www.mdfr.org.au/BugGuide/> (material para identificação de grupos bentônicos por imagens e descrições)
- ✓ Illiesia - International Journal of Stonefly Research: <http://www2.pms-lj.si/illiesia/html/2010.html> (download gratuito de artigos)
- ✓ Instituto Hórus: <http://www.institutohorus.org.br/> (banco de dados e informações sobre as espécies exóticas invasoras do Brasil)
- ✓ Invertebrates as Indicators - United States Environmental Protection Agency: <http://www.epa.gov/bioindicators/html/invertebrate.html> (informações, imagens, sites, relatórios)
- ✓ Key to Aquatic Macroinvertebrates - New York State Department of Environmental Conservation: <http://www.dec.ny.gov/animals/35772.html>

- ✓ Nederlandse zoetwater bryozoën (mosdieren):  
<http://www.bryozoans.nl/> (Informações e ótimas fotos de briozoários)
- ✓ North American Benthological Society:  
<http://www.benthos.org/index.aspx> (informações, acesso aos artigos do JNABS só para associados)
- ✓ Plecoptera:  
<http://www.cals.ncsu.edu/course/ent425/compendium/stonef~1.html>  
(informações)
- ✓ Tree of Life Web Project - Trichoptera: <http://tolweb.org/trichoptera>  
(filogenia da ordem)
- ✓ Tree of Life Web Project - Plecoptera:  
<http://tolweb.org/tree?group=Plecoptera> (filogenia da ordem)
- ✓ Trichoptera World Checklist:  
<http://entweb.clemson.edu/database/trichopt/>
- ✓ Troutnut.com: <http://www.troutnut.com/> (fotos de Ephemeroptera, Trichoptera e Plecoptera)
- ✓ Walker, I. R., 2007. The WWW Field Guide to Fossil Midges:  
<http://www.paleolab.ca/wwwguide/> (chave de identificação com imagens fotográficas de gêneros de Chironomidae)



## ANEXO A

### Espécies de macroinvertebrados aquáticos ameaçadas de extinção com ocorrência no estado de São Paulo

#### Porífera - Desmopongiae

##### Família Potamolepidae

##### *Uruguaya corallioides* (EN)

Ocorrência: Bacias dos rios Paraná e Tietê.

Principais ameaças: Construção de barragens.

#### Mollusca - Bivalvia

##### Família Hyriidae

##### *Castalia undosa* (EN)

Ocorrência: Bacias dos rios Paraná, Paranapanema, Grande e Tietê. No Programa Biota-Fapesp foi coletado nos municípios de: Porto Ferreira, Jardinópolis (Rio Pardo), Paulo de Faria, Paranapuã, Pirassununga, Araraquara e São Carlos.

Principais ameaças: Destruição de habitats e competição com espécies exóticas invasoras (especialmente *Corbicula fluminea*).



Fonte: Dr Wagner E. P. Avelar (<http://sinbiota1.biota.org.br/sia/consulta?search>)

Nota: Mapa construído pelo Sistema de Informação Ambiental do Biota (SinBiota) do Programa Biota/FAPESP (<http://sinbiota1.biota.org.br/atlasold/>)

***Diplodon caipira* (EN)**

Ocorrência: Rios Sapucaí e Pardo.

Principais ameaças: Destruição de habitats e competição com espécies exóticas invasoras (especialmente *Corbicula fluminea* e *Limnoperna fortunei*).

***Diplodon expansus* (VU)**

Ocorrência: Baixo rio Tietê. (em UC: Reserva Biológica da Serra do Mar)

Principais ameaças: Destruição de habitats e competição com espécies exóticas invasoras (especialmente *Melanoides tuberculatus* e *Corbicula fluminea*).

***Diplodon fontainianus* (EN)**

Ocorrência: Bacias dos rios Tietê, Paraná, Paranapanema e em rios da costa atlântica.

Principais ameaças: Destruição de habitats e competição com espécies exóticas invasoras.

***Diplodon greeffeanus* (EN)**

Ocorrência: Afluentes do médio e alto rio Paraná.

Principais ameaças: Destruição de habitats e competição com espécies exóticas invasoras (especialmente *Melanoides tuberculatus* e *Corbicula fluminea*).

***Diplodon martensi* (VU)**

Ocorrência: em UC: Reserva Biológica da Serra do Mar.

Principais ameaças: Destruição de habitats e competição com espécies exóticas invasoras (especialmente *Limnoperna fortunei* e *Corbicula fluminea*).

### *Diplodon rotundus* (EN)

Ocorrência: Bacias dos rios Sapucaí, Pardo e Mogi-guaçu. No Programa Biota-Fapesp foi coletado nos municípios de: Sta Rosa do Viterbo, Ourinhos (Rio Fartura), Teodoro Sampaio, Porto Ferreira, São Joaquim da Barra, Ipuã, Guairá, Ilha Solteira, Pereira Barreto, Buritama (Res. Nova Avanhandava), Tambaú, Jardinópolis, Pirassununga, Itapira, Bragança Paulista (Rio Atibaia), Morungaba (Rio Jaguari), Valinhos (Rio Jaguari - Usina Esther), Cosmópolis (rio Piracicaba), Piracicaba, Laranjal Paulista (Rio Lara), Piraju (Rio Paranapanema) e Taquarituba (Rep. Guaranapanema).

Principais ameaças: Destruição de habitats e competição com espécies exóticas invasoras.



Fonte: Dr Wagner E. P. Avelar (<http://sinbiota1.biota.org.br/sia/consulta?search>)

Nota: Mapa construído pelo Sistema de Informação Ambiental do Biota (SinBiota) do Programa Biota/FAPESP (<http://sinbiota1.biota.org.br/atlasold/>)

## Família Mycetopodidae

### *Anodontites soleniformes* (VU)

Ocorrência: Bacias dos rios Paraná, Paranapanema, Grande e Tietê. No Programa Biota-Fapesp foi coletado nos municípios de: Jardinópolis (Rio Pardo) e São José da Bela Vista.

Principais ameaças: Destruição de habitats e competição com espécies exóticas invasoras.



0 42 84 126 168 km

© Centro de Referência em Informação Ambiental

Map  
Server

Fonte: Dr Wagner E. P. Avelar (<http://sinbiota1.biota.org.br/sia/consulta?search>)

Nota: Mapa construído pelo Sistema de Informação Ambiental do Biota (SinBiota) do Programa Biota/FAPESP (<http://sinbiota1.biota.org.br/atlasold/>)

### *Anodontites tenebricosus* (VU)

Ocorrência: No Programa Biota-Fapesp foi coletado no município de: Caconde (Rio Pardo).

Principais ameaças: Destruição de habitats e competição com espécies exóticas invasoras (especialmente *Limnoperna fortunei* e *Corbicula fluminea*).



0 42 84 126 168 km

© Centro de Referência em Informação Ambiental

Map  
Server

Fonte: Dr Wagner E. P. Avelar (<http://sinbiota1.biota.org.br/sia/consulta?search>)

Nota: Mapa construído pelo Sistema de Informação Ambiental do Biota (SinBiota) do Programa Biota/FAPESP (<http://sinbiota1.biota.org.br/atlasold/>)

### ***Anodontites trapesialis* (VU)**

Ocorrência: Bacias dos rios Paraná, Paranapanema, Grande e Tietê. No Programa Biota-Fapesp foi coletado nos municípios de: Porto Ferreira, Ourinhos (Rio Fartura), Jardinópolis (Rio Pardo), Paranapuã, Barra Bonita, Pereira Barreto (Res. Três Irmãos), Buritama (Res. Nova Avanhandava), São Joaquim da Barra, Tambaú, Barrinha, Pirassununga, Itapira (Rio Manso e Rio do Peixe), Bragança Paulista (Rio Atibaia), Morungaba (Rio Jaguari), Anhembi (Rio do Peixe) e Taquarituba (Represa do Guaranapanema). Em 2003, uma população desta espécie foi observada no Res. do Rio Grande, no complexo Billings, junto à desembocadura do Ribeirão Pires, em frente ao Parque Municipal Milton Marinho de Moraes (Portal Perfuradores.com, 2003). Em 2010 e 2012 foram capturados exemplares no município de Monte Aprazível (Rio São José dos Dourados) na Rede de Monitoramento CETESB (CETESB, 2011a).

Principais ameaças: Destruição de habitats e competição com espécies exóticas invasoras.





Fonte: Dr Wagner E. P. Avelar (<http://sinbiota1.biota.org.br/sia/consulta?search>)

Nota: Mapa construído pelo Sistema de Informação Ambiental do Biota (SinBiota) do Programa Biota/FAPESP (<http://sinbiota1.biota.org.br/atlasold/>)

Nota: Portal Perfuradores.com, 2003. Disponível em:

<http://www.perfuradores.com.br/index.php?CAT=pocosagua&SPG=noticias&TEMA=Meio%20Ambiente&NID=0000001192>).

### ***Anodontites trapezeus* (EN)**

Ocorrência: Bacias dos rios Paraná, Paranapanema, Grande e Tietê. No Programa Biota-Fapesp foi coletado nos municípios de: Porto Ferreira e Barra Bonita.

Principais ameaças: Destruição de habitats e competição com espécies exóticas invasoras.



Fonte: Dr Wagner E. P. Avelar (<http://sinbiota1.biota.org.br/sia/consulta?search>)

Nota: Mapa construído pelo Sistema de Informação Ambiental do Biota (SinBiota) do Programa Biota/FAPESP (<http://sinbiota1.biota.org.br/atlasold/>)

### ***Fossula fossiculifera* (EN)**

Ocorrência: Bacias dos rios Paraná, Paranapanema e Tietê. No Programa Biota-Fapesp foi coletado nos municípios de: Porto Ferreira, São Joaquim da Barra, Ipuã, Jardinópolis (Rio Pardo), Caconde (Rio Pardo), São José da Bela Vista, Paranapuã, Bragança Paulista (Rio Atibaia) e Morungaba (Rio Jaguari).

Principais ameaças: Destruição de habitats e competição com espécies exóticas invasoras.



Fonte: Dr Wagner E. P. Avelar (<http://sinbiota1.biota.org.br/sia/consulta?search>)

Nota: Mapa construído pelo Sistema de Informação Ambiental do Biota (SinBiota) do Programa Biota/FAPESP (<http://sinbiota1.biota.org.br/atlasold/>)

### ***Monocondylaea paraguayana* (VU)**

Ocorrência: atualmente desconhecida no estado de São Paulo.

Principais ameaças: Destruição de habitats e competição com espécies exóticas invasoras (especialmente *Limnoperna fortunei* e *Corbicula fluminea*).

### ***Mycetopoda siliquosa* (VU)**

Ocorrência: atualmente desconhecida no estado de São Paulo.

Principais ameaças: Destruição de habitats e competição com espécies exóticas invasoras (especialmente *Limnoperna fortunei* e *Corbicula fluminea*).

## Mollusca - Gastropoda

### Família Hydrobiidae

#### *Potamolithus troglobius* (VU)

Ocorrência: É endêmica das cavernas Areias I e Areias II (coordenadas aproximadas 24°35'S; 48°42'W), localizadas no Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira.

Principais ameaças: Visitação excessiva das cavernas, alterações na qualidade do habitat e competição com espécies exóticas invasoras, especialmente *Melanooides tuberculatus*.

## Malacostraca - Amphipoda

### Família Hyalellidae

#### *Hyalella caeca* (VU)

Ocorrência: Restrita a Gruta Tobias de Baixo, localizada no município de Iporanga (Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira).

Principais ameaças: Mineração ilegal de calcáreo, excesso de visitação das cavernas e degradação do habitat.

## Malacostraca - Decapoda

### Família Aeglidae

#### *Aegla cavernícola* (VU)

Ocorrência: Espécie endêmica das Grutas Areias I e II, no município de Iporanga. As grutas estão situadas na Província Espeleológica do Vale do Ribeira, região do Vale do Betari (Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira).

Principais ameaças: Excesso de visitação das cavernas e degradação do habitat.

#### *Aegla leptochela* (VU)

Ocorrência: Espécie endêmica da Gruta dos Paivas, no município de Iporanga. As grutas estão situadas na Província Espeleológica do Vale do Ribeira, região do Vale do Betari (Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira).

Principais ameaças: Excesso de visitação das cavernas e degradação do habitat.

#### *Aegla microphthalmia* (VU)

Ocorrência: Espécie endêmica da Caverna Sant'Anna, no município de Iporanga. As grutas estão situadas na Província Espeleológica do Vale do Ribeira, região da Fazenda Intervalles (Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira).

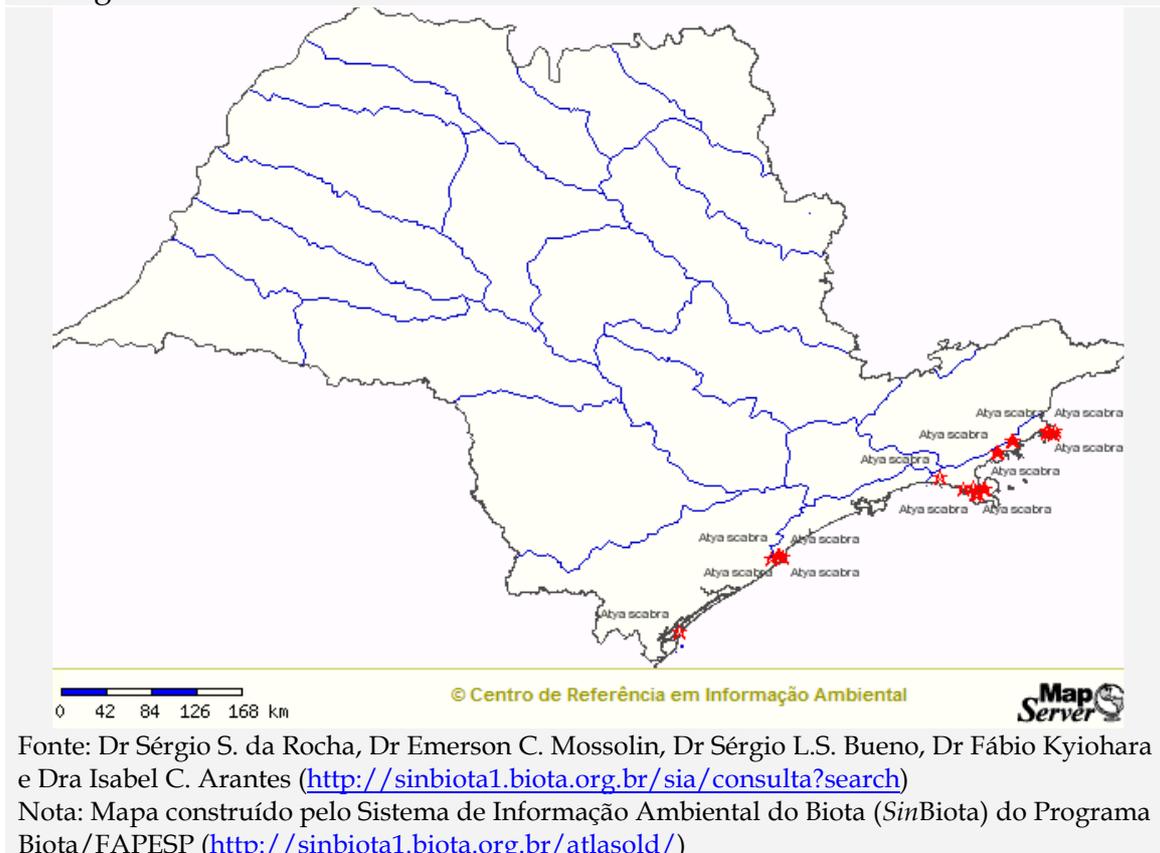
Principais ameaças: Excesso de visitação das cavernas e degradação do habitat, especialmente contaminação das águas por metais pesados (As, Hg e Cd).

### Família Atyidae

### *Atya scabra* (VU)

Ocorrência: Rios costeiros. Em UC: Estação Ecológica Juréia-Itatins e Parque Estadual da Ilha do Cardoso. No Programa Biota-Fapesp foi coletado nos municípios de: Peruíbe (Poço do Paraíso - Núcleo Itinguçú, Rio Perequê); São Sebastião (Rio Guaecá, Rio Toque-toque Pequeno, Rio Bela Vista, Rio Cristina), Ubatuba (Rio da Fazenda, Rio Picinguaba, Poço do Amor – Núcleo Picinguaba, Rio Comprido, Rio do Ouro, Rio Marimbondo, Rio Tunhumbi, Cach. do Engenho), Cananéia (Cach. Rio Pedro Luiz), Ilhabela (Rio da Cocaia, Rio Castelhanos, Rio Três Tombos, Rio do Curral).

Principais ameaças: Degradação do habitat, especialmente a construção de barragens.



## Família Palaemonidae

### *Macrobrachium carcinus* (VU)

Ocorrência: Rios costeiros. Em UC: Estação Ecológica Juréia-Itatins. No Programa Biota-Fapesp foi coletado nos municípios de: Caraguatatuba (Rio Claro, Rio Mococa), Peruíbe (Rio Perequê), Ubatuba (Rio da Fazenda, Rio da Canoa, Rio Picinguaba, Poço do Amor - Núcleo Picinguaba, Rio do Ouro, Rio Marimbondó), Cananéia (Rio Branco), São Sebastião (Rio Toque-toque Pequeno, Rio Bela Vista), Ilhabela (Rio Cocaia, Rio do Curral).

Principais ameaças: Degradação do habitat, especialmente a construção de barragens.



Fonte: Dr Sérgio S. da Rocha, Dr Emerson C. Mossolin, Dr Sérgio L.S. Bueno, Dr Fábio Kyiohara, Dra Isabel C. Arantes, Dr Célio Magalhães e Dra Georgina Bond-Buckup (<http://sinbiota1.biota.org.br/sia/consulta?search>)

Nota: Mapa construído pelo Sistema de Informação Ambiental do Biota (SinBiota) do Programa Biota/FAPESP (<http://sinbiota1.biota.org.br/atlasold/>)

Insecta - Ephemeroptera

Família Leptophlebiidae

*Perissophlebiodes flinti* (EN)

Ocorrência: Riachos rápidos da Mata Atlântica. Em UC: Parque Estadual Intervales. No Programa Biota-Fapesp foi coletado no município de: Guapiara. Principais ameaças: Degradação do habitat.



Foto: Ninfa de hábito aquático. Dr Frederico F. Salles (<http://sites.google.com/site/ephemeropterabr/>)



Fonte: Dr C.M. Polegatto (<http://sinbiota1.biota.org.br/sia/consulta?search>)

Nota: Mapa construído pelo Sistema de Informação Ambiental do Biota (SinBiota) do Programa

Biota/FAPESP (<http://sinbiota1.biota.org.br/atlasold/>)

**Insecta - Odonata**

**Família Coenagrionidae**

***Minagrion mecistogastrum* (VU)**

Ocorrência: Ambientes aquáticos inseridos no bioma Mata Atlântica, nos municípios de Iporanga, Barueri, Juquiá, Jacareí e Salesópolis. Em UCs: Parque Estadual da Serra do Mar - núcleo Caraguatatuba, Parque Estadual de Jacupiranga e Estação ecológica da Juréia-Itatins.

Principais ameaças: Degradação do habitat.

Fonte: Brasil (2003, 2004), Machado, Drummond e Paglia (2008) e Programa Biota - FAPESP (<http://www.biota.org.br/index>).

Legenda: EN= em perigo; VU = vulnerável.

Nota: segundo Instruções Normativas do Ministério do Meio Ambiente nºs 03/03 e 05/04 (BRASIL, 2003, 2004). *Status* de acordo com Machado, Drummond e Paglia (2008)

## ANEXO B

### **Espécies exóticas invasoras e com potencial de bioinvasão de macroinvertebrados aquáticos para o estado de São Paulo.**

Em 09/11/2011, o Conselho da Secretaria do Meio Ambiente do estado de São Paulo aprovou a Deliberação CONSEMA Normativa -2 (SÃO PAULO, 2011) que regulamentou a elaboração e atualização da lista de espécies exóticas invasoras para o estado de São Paulo. De imediato, das espécies bentônicas de água doce, apenas o mexilhão dourado (*Limnoperna fortunei*) foi listado como espécie invasora. As outras espécies abaixo listadas deverão passar por análise de risco de bioinvasão antes de pertencerem à lista oficial, mas a literatura (MAGALHÃES et al., 2005; SIMONE, 2006; GAZOLA-SILVA; MELO; VITULE, 2007; SURIANE; FRANÇA; ROCHA, 2007; SOUZA; CALAZANS; SILVA, 2009; ROCHA et al., 2011) já as indica como invasoras em São Paulo e/ou em estados vizinhos. O pitu de água doce, *Macrobrachium rosenbergii*, embora não ofereça risco de bioinvasão quando cultivado no interior do Estado, por necessitar de água salobra para completar seu ciclo de vida, está listado por ainda apresentar potencial de invasão em cultivos junto à região costeira.

**Mollusca - Bivalvia**

**Família Corbiculidae**

*Corbicula fluminea*



Foto: Carlos Barbosa Pinto

Ocorrências: Amplamente distribuído nas bacias hidrográficas do estado de São Paulo.

Origem: China.

Introdução: Provavelmente pela água de lastro.

Impacto: Desenvolvem populações densas que deslocam as espécies nativas por competição e causam entupimento de canalizações urbanas e dos sistemas de resfriamento de hidrelétricas.

Fonte: Suriane, França e Rocha (2007) e CETESB (2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012).

**Família Mytilidae**

*Limnoperna fortunei*



Foto: Mônica Luisa Kuhlmann

Ocorrências: Em todo trecho paulista do rio Paraná, no rio Parananapena, pelo menos até o reservatório Capivara, no rio Grande e na bacia do médio ao baixo Tietê (do reservatório de Barra Bonita à sua foz), acompanhando as rotas hidroviárias do estado.

Origem: China e sudeste da Ásia.

Introdução: Descarga de água de lastro.

Impacto: Desenvolvem populações densas, fixando-se em todo tipo de substrato, deslocando as espécies nativas por competição ou causando sua morte por asfixia ao desenvolverem-se sobre suas conchas. Também tem modificado a dieta alimentar de várias espécies de peixes. Causam danos econômicos vultuosos ao promoverem o entupimento de canalizações urbanas e dos sistemas de resfriamento de hidrelétricas.

Fonte: Souza, Calazans e Silva (2009); CETESB (2007, 2008, 2009 e 2010).

## Mollusca - Gastropoda

### Família Thiaridae

#### *Melanoides tuberculatus*



Foto: Mônica Luisa Kuhlmann

Ocorrências: Amplamente distribuído nas bacias hidrográficas do estado de São Paulo.

Origem: Norte e norte da África, sudeste da Ásia, China e Ilhas do Indo-Pacífico.

Introdução: Aquariofilia.

Impacto: Deslocamento de espécies nativas por competição.

Fonte: Suriane, França e Rocha (2007) e CETESB (2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2012).

## Crustacea - Decapoda

### Família Cambaridae

#### *Procambarus clarkii*

Ocorrências: Taubaté (córrego no bairro Vila Nogueira); São Paulo (Parque Municipal Alfredo Volpi); Embu (pesqueiro do Gaúcho no bairro Itatuba)

Origem: Centro-sul dos EUA e nordeste do México.

Introdução: Aquariofilia. Liberação acidental ou proposital de donos de aquário arrependidos.

Impacto: O hábito de cavar causa prejuízo às culturas (arroz), represas e lagoas de piscicultura. Pode causar dano às spp nativas, principalmente de moluscos, anfíbios e alevinos, principalmente como vetor de doenças, como fungos.

Fonte: Magalhães et al. (2005)

**Família Palaemonidae**

***Macrobrachium rosenbergii***

Ocorrências: Brejo Alegre; Pindamonhangaba (viveiros do I. Pesca).

Origem: Região indo-pacífica (Oeste do Indo-Pacífico, do Paquistão ao Vietnã, Filipinas, Nova Guiné e Norte da Austrália).

Introdução: Aquicultura. Importado em 1977 de fazendas havaianas pela UFPE e introduzido em SP, provavelmente também para fins de pesquisa, no início dos anos 1980. Não há relato de sucesso reprodutivo da espécie em ambiente natural (provavelmente a dificuldade consista na dependência da larva ao ambiente salobro).

Impacto: não há relatos de impactos econômicos ou ecológicos.

Fonte: Magalhães et al. (2005); Gazola-Silva, Melo e Vitule (2007).